

Universitat de Lleida

# TREBALL FINAL DE MÀSTER



ESCOLA  
POLITÈCNICA SUPERIOR  
UNIVERSITAT DE LLEIDA  
INSPIRING THE FUTURE

**Estudiant:** Cristian Mateo Serrano Cardona

**Titulació:** Màster en Enginyeria del Cuir

**Títol de Treball Final de Màster:** Estudio y caracterización de los polifenoles  
provinientes de los residuos de la exploración forestal del nogal.

**Director/a:** Anna Bacardit Dalmanes

**Presentació**

**Mes:** Octubre

**Any:** 2020

## ÍNDICE

1. Resumen .....	3
2. Objetivos. ....	7
3. Antecedentes. ....	8
4. Contenido:.....	13
4.1. Sección 1. Descripción del Nogal.....	14
4.1.1. Distribución geográfica .....	14
4.1.2. Descripción.....	15
4.1.3. Atributos del Nogal.....	16
4.2. Sección 2. Fundamento teórico.....	17
4.2.1. Estructura de las células vegetales.....	17
4.2.3. Composición de los extractos vegetales. ....	24
4.2.4. Principios de la curtición vegetal. ....	33
4.3. Sección 3. Desarrollo experimental.....	36
4.3.1. Estudio preliminar empresa Bosques Naturales. ....	36
4.3.2. Estudio preliminar.....	37
4.3.3. Estudio de la relevancia del tamaño del producto en la extracción.....	38
4.3.4. Caracterización de los taninos por HPLC.....	39
4.4. Sección 4. Resultados y conclusiones. ....	42
4.4.1. Resultados del estudio preliminar llevado a cabo en la empresa Bosque verde. 42	
4.4.2. Contenido tánico según la norma 14088:2012. ....	43
4.4.4. Caracterización de los taninos por HPLC.....	44
4.4.5. Recomendaciones.....	52
5. Bibliografía. ....	54
6. Anexo I .....	57

## **1. Resumen**

En la actualidad, la humanidad consume muchos recursos naturales, como carbón, madera, alimentos, agua, entre muchos otros. Y aunque muchos de estos recursos son conocidos como recursos renovables, la sobre explotación está reduciendo estos recursos en las últimas décadas como hemos podido ver, por ejemplo, en la reducción de la extensión de la selva amazónica. Esta sobre explotación y falta de cuidado también ha llevado a contaminar gran parte de estos recursos naturales como el agua, un buen ejemplo de ello es el río Ganges, convirtiendo esta agua en insalubre al paso por muchas ciudades.

En las últimas décadas gran parte de la sociedad a nivel mundial se ha dado cuenta que esta sobre explotación de los recursos naturales nos abocan a un colapso: no es sostenible mantener el crecimiento de la población mundial y el consumo actual de los recursos con la esperanza de un futuro.

Es en este contexto donde nació la filosofía de las 3R (reciclar, reducir y reutilizar), este concepto tomó gran importancia en 2004 cuando Japón defendió esta filosofía en la cumbre del G8.

Con el paso de los años muchos industriales han visto en esta filosofía no solo un paso para mejorar el medio ambiente, sino también una buena idea para reducir gastos, monetizar y reaprovechar residuos. Gracias a esto nace este trabajo. La empresa Bosques Naturales se dedica a la explotación forestal del nogal, esta explotación genera una serie de residuos como los restos de poda, costales y restos de madera. Se quiere buscar un uso de estos residuos, que puedan ser utilizados en otras industrias y de esta forma reducir los residuos y sacar un provecho socioeconómico.

Como es conocido por todos muchas plantas producen diferentes metabolitos secundarios, algunos de ellos son los taninos. Estos taninos se pueden utilizar en diferentes sectores industriales como la curtición. Además, los polifenoles tienen también mercado en sectores farmacéuticos y cosméticos por su poder antioxidante.

Los taninos pueden formar complejos con el colágeno de la piel y así evitar que las enzimas y el paso del tiempo degraden el estado físico de la piel, es decir estabilizan la piel para evitar

la putrefacción. Este sistema de curtición vegetal fue la herramienta que nos ayudó por primera vez a aprovechar la piel animal, y ha sido así durante muchos siglos, y solo cuando se descubrió que la curtición al cromo aportaba mayores prestaciones, la curtición vegetal paso a ocupar un segundo plano en la industria del cuero.

En curtición vegetal la materia prima son los taninos, entre los taninos más utilizados encontramos los taninos de castaño, de mimosa, la tara y el quebracho. Los taninos también son utilizados en la curtición mixta, que combina la conocida curtición wet-white (aquella curtición libre de cromo, que sustituye este mineral por otros como el aluminio, titanio o zinc) y extractos vegetales.

La industria del cuero y consumidores en los últimos años vive una creciente preocupación por el medio ambiente, por reducir el impacto ambiental de esta industria, en especial por los residuos generados de cromo, y es en este contexto donde la curtición vegetal y mixta está volviendo a tomar más importancia, ello lleva a la busca continua de extractos que confieran al cuero mayores prestaciones, que puedan equipararse a las prestaciones de los cueros al cromo.

En este trabajo hemos tratado un poco los temas que se comentan anteriormente y hemos caracterizado los taninos de los restos de la explotación forestal del nogal, para ver su futura viabilidad en la industria del cuero. Por la cantidad de taninos que tienen estos residuos es poco viable que se utilicen en una curtición vegetal 100%, pero si pueden ser utilizados en curticiones mixtas, o recurticiones. Y de esta forma reducir y utilizar los residuos de la explotación forestal del nogal en nuestro territorio.

## **Abstract**

Nowadays, humanity consumes lots of natural resources, such as carbon, wood, food and water to name a few. And even though lots of these resources are known as renewable resources, overexploitation has been reducing them in the last decades, as we have been able to see, for instance, in the reduction of the Amazon rainforest extension. This overexploitation and the lack of care have also led to the contamination of a great part of this

natural resource such as water, a good example of which would be the Ganges river, making this water unsanitary when arriving to lots of cities.

In the last decades a great part of the society across the globe has realized that this overexploitation of the natural resources has led us to a collapse. It is not sustainable to keep maintaining the worldwide population growth and the actual consume of the resources with the hope of a future.

This is the context where the 3R philosophy (recycle, reduce and reuse) was born. This concept took a great importance in 2004 when Japan defended this philosophy in the G8 summit.

With the pass of the years lots of industrialists have seen in this philosophy not just a step for improving the environment, but to also reducing, monetizing and taking advantage again of the waste. Thanks to this is this work born. The company Bosques Naturales is dedicated to the forest exploitation of the walnut. This exploitation generates a series of waste such as the waste from pruning, barks, and rests from wood. It is required to search for a use of this waste, which can be utilized in other industries and in this way, reduce the waste and take a socioeconomical profit.

As it is known by everyone, lots of plants produce different secondary metabolites, some of which are the tannins. These tannins can be utilized in different industrial sectors such as tanning. Moreover, polyphenols have also market in pharmaceuticals and cosmetic sectors because of its antioxidant power.

Tannins are able to form complexes with skin collagen and thus avoiding enzymes and the passing of time to degrade skin's physical condition, which is to say that they stabilize the skin in order to avoid putrefaction. This vegetal tanning system was the tool that helped us for the first time to take profit of the animal leather, and has been so for lots of centuries, and just when the fact that chromium tanning offered more benefits was discovered, did vegetal tanning move to second place in the leather industry.

In vegetal tanning are tannins the raw materia. When talking about the most utilized tannins, chestnut, mimosa, tara and the quebracho can be found. Tannins are also utilized in mixed tanning, that combines the well-known wet-white (the tanning chromium free, which

substitutes this mineral by others such as the aluminum, titanium or zinc would be) and vegetal extracts.

The leather industry and consumers in the last years live a growing concern for the environment, to reduce the environmental impact of this industry, especially for the waste generated by chromium, and is in this context where vegetal tanning and mix tanning is again gaining more relevance, which leads to the continual search of extracts that confer more benefits to leather, this being able to be compared to the benefits given by chrome.

In this paper we have addressed a bit of the issues mentioned above and have characterized tannins and the rests of the walnut forest exploitation in order to see its future viability in the leather industry. Because of the quantity of tannins that this waste possesses, it is not feasible for them to be used in a vegetal tanning 100%. However, they can be used in mixed tanning or retanning. And in this way reduce and utilize the waste from the forest exploitation from the walnut in our territory.

## **2. Objetivos.**

- Determinación de los taninos en tres subproductos de la explotación forestal del nogal:

N1 Restos de poda, provenientes de Galicia.

N2 Costales, provenientes de Galicia.

N3 Madera, proveniente de Extremadura.

Estos tres subproductos fueron proporcionados por la empresa Bosques Naturales, después de que ellos hubieren hecho un primer estudio exploratorio de los polifenoles de estas muestras.

- Caracterización del tipo de tanino que contienen las muestras por HPLC:

En este apartado intentaremos determinar de manera experimental qué tipo de tanino tenemos en la muestra, ya que como es sabido existen dos grandes familias de taninos los condensados y los hidrolizables. Debido a sus diferencias en la composición química nos darán espectros en cromatografía líquida (HPLC) diferentes. Gracias a la biblioteca de muestras y patrones podremos identificar alguno de los taninos que contengan las diferentes muestras. Para la empresa Bosques Naturales no solo es importante la aplicación de los taninos a la curtición, sino también el posible aprovechamiento de estos polifenoles en otras industrias.

Hay que decir que también existen otros métodos como puede ser el método de la norma ASTM D6401 o el análisis cuantitativo de los agentes curtientes por el método del filtro. (ISO 14088).

### 3. Antecedentes.

En 2003 los investigadores **T. Fukuda, H. Ito y T. Yoshida de la universidad de Okayama, Japón realizaron un estudio sobre los polifenoles antioxidantes de las nueces del nogal**. Las nueces del nogal contienen antioxidantes como el Alpha-tocopherol, pero en menor medida que otras nueces, pero aun así se conservan muy bien, pese a tener ácidos grasos que se oxidan con facilidad. Así que decidieron hacer un estudio estructural de los taninos para ver cómo interactúan e inhiben de alguna forma la autooxidación de estos ácidos grasos. En su estudio nos comentan que los taninos son hidrolizables, los aíslan haciendo diferentes extracciones con agua-etanol a temperatura ambiente, y luego fraccionado en hexano, butanol entre otros. Se analizaron las diferentes fracciones y se caracterizaron las estructuras de 16 taninos. (Fukuda et al., 2003)

En Journal of Environmental Management los investigadores X. Son Wang, Z. Zhong Li, S. Rong Tao hacen un estudio sobre **removal of chromium (VI) from aqueous solution by walnut hull**. En este artículo se realiza un estudio sobre cómo eliminar el cromo (VI) de las soluciones acuosas. En este estudio se ve que los resultados son buenos, las nueces pueden secuestrar el cromo VI de las soluciones acuosas, pero bajo unas condiciones, como lo es la concentración y sobre todo el pH. Esta característica puede tener aplicaciones en el mundo de los metales, así como en la curtición. (Wang et al., 2009)

Ana Slatnar, et. al, realizaron un estudio titulado **Identification and quantification of phenolic compounds in kernels, oil and bagasse pellets of common walnut (Juglans regia L.)** publicado en Food research International. En este estudio hacen la extracción de los polifenoles con una mezcla de metanol/agua (v/v, 60/40) a cero grados. La detección se hizo mediante HPLC con una matriz de diodos ajustada a 280nm y 350nm. Los espectros se registraron entre 200 y 600nm. Se utilizó una columna Gemini C<sub>18</sub> (150 x 4.6 mm 3µm; Phenomenex, Torrance) se operó a 25 grados. Los solventes de elución fueron ácido fórmico acuoso 0.1% en agua destilada y 0.1% ácido fórmico en acetonitrilo, los gradientes y demás parámetros se encuentran en el artículo, así como la identificación de cada polifenol.

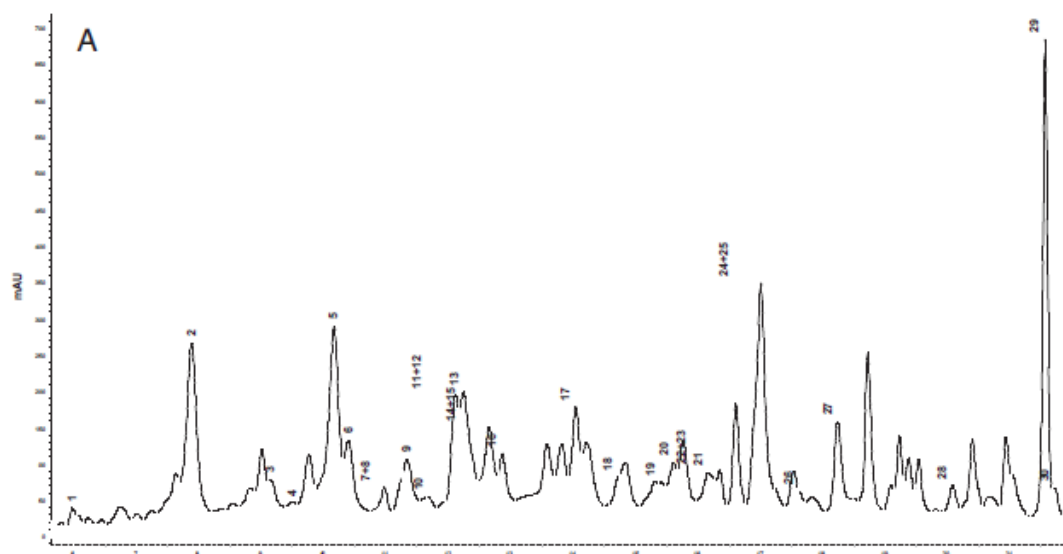


**Table 1**  
Identification of phenolic compounds in walnut kernels, bagasse pellets and oils in negative ions with HPLC-MS and MS<sup>2</sup>.

Part	Peak no.	[M-H] <sup>-</sup> (m/z)	λ (nm)	MS <sup>2</sup> (m/z)	Tentative identification	t <sub>R</sub> (min)	Reference	Expressed as
Kernels/pellets	1	169	280	125	Gallic acid	5.97	[Regueiro et al., 2014; Wang, Du, Hu, & Qi, 2009]	Gallic acid
	2	783		481, 301, 275	Di-HHDP glucose isomer 1	7.88	[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	3	633		481, 301	HHDP galloyl glucose 1	9.15	[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	4	353		191, 179	3-O-caffeoylquinic acid	9.50	[Gomez-Caravaca et al., 2008]	Neochlorogenic acid
	5	783		481, 301, 275	Di-HHDP glucose isomer 2	10.17	[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	6	577		425, 407, 289	Procyanidin dimer	10.39	[Grace et al., 2014]	Procyanidin B2
	7 + 8	355		193	Ferulic acid glucoside	10.97	[Gomez-Caravaca et al., 2008]	Ferulic acid
		483		313, 169	Digalloylglucose		[Gomez-Caravaca et al., 2008]	Gallic acid
	9	785		301, 419, 615, 633, 275	HHDP digalloyl glucose isomer 1	11.34	[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	10	337		163	3-O-p-coumaroylquinic acid	11.69	[Regueiro et al., 2014]	p-Coumaric acid
	11 + 12	289		245	Catechin	12.11	[Grace et al., 2014]	Catechin
		633		481, 301	HHDP galloyl glucose 2		[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	13	865		577, 451, 425, 407, 289	Procyanidin trimer	12.24	[Regueiro et al., 2014]	Procyanidin B2
	14 + 15	935		633, 301	Galloyl bis HHDP glucose 1	12.65	[Regueiro et al., 2014]	Gallic acid
		1153		865, 577, 451, 425, 289	Procyanidin tetramer		[Regueiro et al., 2014]	Procyanidin B2
	16	783		481, 301, 275	Di-HHDP glucose isomer 3	12.86	[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	17	785		301, 419, 615, 633, 275	HHDP digalloyl glucose isomer 2	14.04	[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	18	933		451, 631, 301	Vescalagin isomer 1	14.70	[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
	19	785		301, 419, 615, 633, 275	HHDP digalloyl glucose isomer 3	15.40	[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	20	783		481, 301, 275	Di-HHDP glucose isomer 4	15.51	[Regueiro et al., 2014; Wang et al., 2009]	Gallic acid
	21	933		451, 631, 301	Vescalagin isomer 2	16.16	[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
	22 + 23	565		403, 343, 241, 197	Glaucagin B	16.35	[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
		933		451, 631, 301	Vescalagin isomer 3		[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
	24 + 25	577		425, 407, 289	Procyanidin dimer	17.00	[Regueiro et al., 2014]	Procyanidin B2
	25	935		633, 301	Galloyl bis HHDP glucose 2		[Regueiro et al., 2014]	Gallic acid
	26	429		369, 387	Unknown	17.65	[Gomez-Caravaca et al., 2008]	Ellagic acid
	27	933		451, 631, 301	Vescalagin isomer 4	18.24	[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
	28	933		451, 631, 301	Vescalagin isomer 5	20.08	[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
	29	592		403, 343, 241, 197	Glaucagin A	21.56	[Grace et al., 2014]	Ellagic acid
	30	933		451, 631, 301	Vescalagin isomer 6	21.71	[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
	31	595	350	433, 301	Q-hexosyl pentoside	14.28		Q-3-glucoside
	32	463		301, 257, 229, 185	Ellagic acid hexoside	15.62	[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
	33	433		301, 257, 229	Ellagic acid pentoside	18.72	[Grace et al., 2014]	Ellagic acid
	34	301		301, 257, 229, 185	Ellagic acid	20.63	[Gomez-Caravaca et al., 2008]	Ellagic acid
	35	585		433, 301	Q-galloyl pentoside 1	22.61		Q-3-glucoside
	36	585		433, 301	Q-galloyl pentoside 2	23.27		Q-3-glucoside
	37	459		413, 353, 371	Unknown	24.60	[Gomez-Caravaca et al., 2008]	Ellagic acid
Oils	38	199.9	280	182	Unknown	5.30		Ellagic acid
	39	369.9		326	Unknown	16.20		Ellagic acid
	40	565		403, 343, 241, 197	Glaucagin B	16.35	[Regueiro et al., 2014]	Ellagic acid
	41	592		403, 343, 241, 167	Glaucagin A	21.56	[Grace et al., 2014]	Ellagic acid
	42	459		413	Unknown	24.68		Ellagic acid
	43	309		263, 219, 153	Unknown	26.49		Ellagic acid

Peak numbers and retention times refer to HPLC traces in Fig. 1. t<sub>R</sub> – retention time, λ (nm) – wavelength at which the compound was detected.

A. Slatnar et al. / Food Research International 67 (2015) 255–263



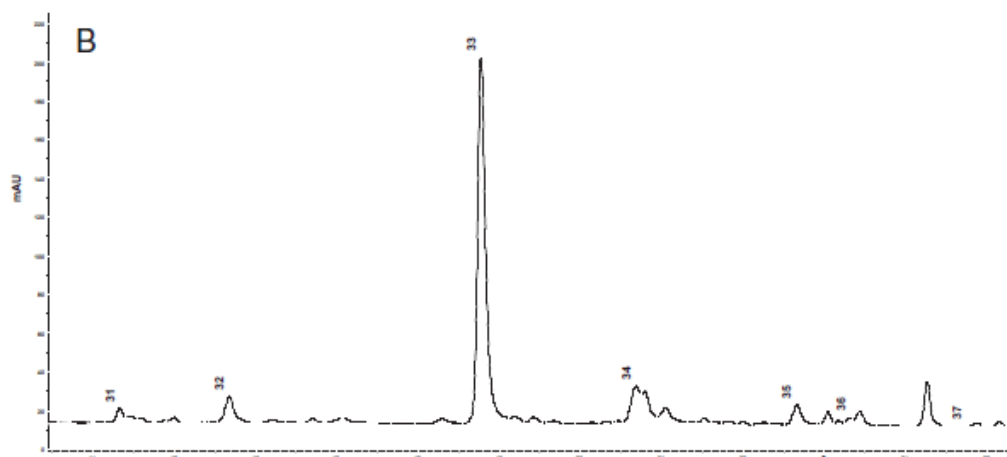


Fig. 1. HPLC chromatogram of phenols in walnut kernels/pellets extract at (A) 280 nm and (B) 350 nm. Peak identification is shown in Table 1.

(Slatnar et al., 2015)

Los investigadores Jerneja JAKOPIČ, Robert VEBERIČ, Franci ŠTAMPAR realizaron un estudio titulado **Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents**, ya que es sabido que la eficiencia de la extracción de los polifenoles tiene una gran dependencia del solvente. Para el estudio de la nuez verde utilizaron dos solventes, metanol y etanol. Se utilizaron dos especies de fruto diferentes y se cuantificaron los fenoles totales y algunos fenoles individuales. Observaron que el mejor disolvente era el metanol al cuantificar los fenoles totales, pero en cuanto a los fenoles individuales vieron que para ciertos fenoles era mejor el metanol y para otros el etanol. (Jakopič et al., 2009)

***Reduction of Hexavalent Chromium Formation in Leather with Various Natural Products*** (*Coridothymus capitatus*, *Olea europaea*, *Corylus avellana*,<sup>[1]</sup> and *Juglans regia*) en este artículo se estudia el poder antioxidante de algunas plantas como el nogal, olivo o tomillo entre otros. El estudio se centra en cómo pueden reducir los extractos de estas plantas a la formación de cromo hexavalente. Para realizar el estudio se hace un envejecimiento forzado y se compara la concentración de cromo hexavalente después del envejecimiento y en base a un patrón curtido y recurtido de la misma forma, pero sin la adición de los extractos de estas plantas. Como conclusión en este estudio se vió que estos extractos de nogal podían reducir la formación de cromo hexavalente hasta un 49,3% (Eke et al., 2012)

El nogal (*Juglans regia* L.) se ha utilizado tradicionalmente en medicina y cosmética, tanto sus nueces como su corteza y hojas. En ese sentido, se consideraba a las hojas de nogal como fuente de compuestos para el tratamiento de insuficiencia venosa (p.ej. varices) y

hemorroides, así como por su uso como antidiarreico, antihelmíntico, depurativo y astringente. Recientemente se han desarrollado numerosos estudios de distintos grupos de investigación que analizan la bio-actividad *in vitro* de los extractos de hojas de nogal considerándose propiedades antioxidantes, anti-tumorales, anti-inflamatorias y anti-proliferativas, llegándose incluso a probar la efectividad *in vivo* de algunas de estas propiedades (p.ej. efecto anti-inflamatorio en ratones y antidiabético en ratas y ausencia de daños citotóxicos en cerdos y daños gástricos en ratones). (Hurtado et al., 2015)

Algunos autores han publicado resultados que muestran que los extractos alcohólicos de hojas de nogal (*Juglans regia* L.) son ricos en compuestos fenólicos como el ácido 3-O-cafeoilshikímico, la quercetina 3-O-glucósido y la quercetina O-pentóxido (Tabla 1), que tienen un interés potencial alto para diversas industrias debido a su alta versatilidad como ingredientes en los conocidos como alimentos funcionales.

Compuestos	Concentración (mg/g en peso seco)
3-O- caffeoylquinic acid	6,4-11,0
Quercetin 3-O-glucoside	13,8-14,2
Quercetin O-pentoside	11,7-14,0
Fenoles totales	124,0-194,9
Flavonoles totales	53,3-56,0

Tabla 1 Resultados del análisis de los principales compuestos en extractos alcohólicos de hojas de nogal (*Juglans regia* L.) según el estudio de Vieira et al. (2017)

Por otro lado, algunos autores muestran resultados que indican que el aceite esencial de hojas de nogal es rico en monoterpenos y sesquiterpenos, siendo sus componentes principales el  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno,  $\beta$ -caryophylleno, germacreno-D,  $\beta$ -ocimeno, sabineno, myrceno,  $\alpha$ -farneseno,  $\beta$ -farneseno y  $\gamma$ -eudesmol, entre otros. En ese sentido, se ha observado como estos compuestos terpénicos, bien individualmente o en conjunto, tienen efecto antibacteriano, antioxidante, nematocida y antiácidos.

En cuanto a la corteza de nogal, hay estudios que muestran el potencial de los extractos de corteza de nogal como anti-fúngico y anti-bacteriano para la higiene bucal y para el tratamiento de la tuberculosis. (Estudio preliminar Proyecto extractus, Bosques Naturales)

Los investigadores Jahanban-Esfahlan et al, realizaron el trabajo **A Comparative Review on the Extraction, Antioxidant Content and Antioxidant Potential of Different Parts of Walnut (*Juglans regia* L.) Fruit and Tree**. En este resumen en forma de tabla vemos los resultados de muchos estudios que han informado del contenido total de fenólicos y flavonoides de otras partes del nogal, especialmente los datos relacionados con la hoja son considerables. Sin embargo, las investigaciones extensas sobre TFOC y TCTC son raras o no se han reportado para una serie de otros componentes como TFAC y THTC.

No	Parts	Unit	Content
1	TPC	g/kg DB <sup>a</sup>	34.5
		mg/kg DB <sup>a</sup>	64596.4
		mg GAEs/g LE <sup>a</sup>	270 ± 3.00
		mg GAEs/g extract	94.39 ± 5.63
		mg GAEs/g	410 ± 14.43
		mg GAEs/g extract <sup>a</sup>	33.67 ± 3.06
		mg GAEs/100 g DS	3704 ± 88
		mg GAEs/g DE	267.30 ± 2.19
		% DW extract <sup>a</sup>	80.3 ± 0.5
		mg GAEs/g extract	94.39 ± 5.63
		g GAEs/100 g DE	8.74 ± 0.33
		mg GAEs/L extract	10125.4
		mg GAEs/g DE	103.33
		mg QGEs/g DS	194.9
		mg GAEs/g DW <sup>a</sup>	46.47 ± 0.89
		mg GAEs/g DW	52.82 ± 0.73
	Shoot	mg GAEs/g of FW <sup>a</sup>	46.534
	Bark	mg GAEs/g extract	9.8
		<sup>4</sup> mg GAEs/g DW	34.833
		mg GAEs/g DW	311.5
	Stem	g GAEs/100 g DE	11.70 ± 0.05
		mg GAEs/g DE	71.51

No	Parts	Unit	Content
2	Leaf	mg REs/g	330 ± 12.21
		mg QEs/g DE	149.00 ± 2.55
		mg QEs/100 g DS	3117 ± 84
		mg QEs/L extract	2952
		mg QEs/g DE	20.17
		mg QEs/g	28.48 ± 0.12
		mg GAEs/g DW <sup>a</sup>	20.06 ± 1.07
	Shoot	mg QEs/g FW <sup>a</sup>	3.837
	Stem	mg QEs/g DE	12.14
3	Leaf	mg REs/g	270 ± 22.33
		mg CAEs/g DS	66
		mg QEs/g	21.76 ± 0.25
4	Leaf	mg LEs/g DE	950.56 ± 4.50
		μg CEs/mg	5.37 ± 0.07
	Shoot	mg CEs/g FW <sup>a</sup>	47.983
	Bark	mg CEs/g DW <sup>a</sup>	16.167
		mg CEs/g DW	38.5

<sup>a</sup> indicating the highest reported value. Abbreviations: TPC: total phenolic content; TFC: total flavonoid content; TFOC: total flavonol content; TCTC: Total condensed tannin content; DB: dry basis; GAEs: gallic acid equivalents; LE: lyophilized extract; DS: dry sample; DE: dry extract; DM: dry matter; FW: fresh weight; REs: rutin equivalents; QEs: quercetin equivalents; DW: dry weight; CAEs: chlorogenic acid equivalents; LEs: leucocyanidin equivalents; CEs: Catechin equivalents.

(Jahanban-Esfahlan et al., 2019)

## **4. Contenido:**

Este trabajo de investigación está estructurado en cuatro secciones:

### **- Sección 1. Descripción del Nogal.**

Esta sección incluye una breve descripción general de la especie *Juglans* o nogal español, distribución geográfica y atributos de cada una de las partes que conforman el árbol.

### **- Sección 2. Fundamentos teóricos.**

Esta sección incluye una breve introducción a las células y a las macromoléculas, y nos centramos en el metabolito secundario que constituye el tanino, ya que es el metabolito sobre el que basamos todo este estudio. Así que completaremos esta sección viendo cual es el rol de los taninos en las plantas, como se forman y sus posibles aplicaciones. Ampliaremos esta sección con una descripción de la composición de los extractos vegetales, método de obtención del material curtiente y principios de la curtición vegetal.

### **- Sección 3. Parte experimental.**

Esta sección se planteó en dos partes: en la primera hicimos una modificación física de las diferentes muestras y realizaremos el análisis cromatográfico tánico de los subproductos de la explotación forestal del nogal, para tener una caracterización química de los subproductos. La segunda parte consistía en realizar modificaciones químicas, donde se pretendía hacer un estudio de solubilización de los taninos mediante diferentes agentes químicos para aumentar el rendimiento en taninos, debido a la situación vivida por el COVID-19 no hemos podido realizarla.

### **- Sección 4. Resultados y conclusiones.**

En esta sección veremos los resultados obtenidos en la sección 3, parte experimental. Discutiremos los resultados y se sacarán conclusiones sobre los resultados obtenidos.

## 4.1.Sección 1. Descripción del Nogal.

### 4.1.1. Distribución geográfica

*Juglans*, el nogal común o nogal español es un árbol monoico y caducifolio de la familia de las *Juglandaceas* en el orden de las Fagales. Es la especie del género más difundida en Europa, extendiéndose por todo el suroeste y centro de Asia, hasta el Himalaya y sudoeste de China.

Es cultivado por la madera, las hojas aromáticas y el fruto comestible, la nuez, y también es cultivado como árbol ornamental.

El nogal es un árbol caducifolio que alcanza los 25 metros de altura con un tronco que puede superar los 2 m de diámetro. De este tronco, que es corto y robusto y de color blanquecino o gris claro, salen gruesas y vigorosas ramas para formar una copa grande y redondeada. Las hojas, de 20-35 cm de largo, producen un fruto comúnmente conocido como nuez.



Figura 1. *Juglans regia*. Fuente: wikipedia

Existen diferentes especies de nogal para producción de madera de calidad, la más conocida es el *Juglans regia*, pero también existen otras especies de gran importancia comercial como es el nogal americano, *Juglans nigra*, *J. Major*, *J. hindsii*.



En las últimas décadas se han desarrollado híbridos a partir del cruce de nogales comunes con clones del nogal negro americano, para mejorar algunas aptitudes, como es la producción de madera de elevada vigorosidad. Los dos híbridos más utilizados son Mj-209xRa y Ng-23xRa. Estas especies se conocen como *Juglans x intermedia*, y ésta es la especie sobre la que se basa nuestro estudio. (Coello, Piqué and Baiges 2017).

#### **4.1.2. Descripción.**

En esta descripción englobaremos las características generales de los nogales, ya que las variaciones entre especies son poco destacadas visiblemente. El nogal es una especie caducifolia que alcanza entre 25 y 35 metros de altura, con un porte majestuoso y copa redondeada. Su tronco es corto, recto y de corteza lisa color marrón oliváceo durante sus primeros años, pero se torna marrón grisáceo con tintes plateados a medida que aumenta de edad. Posee hojas compuestas de entre 25 y 35 centímetros de longitud con 5-9 pares de folíolos, dispuestas de forma alterna. Desprenden un agradable aroma al ser apretadas. Sus flores son monoicas; las flores femeninas crecen en grupos de 2-5 y son pequeñas, de color verdoso y sin pétalos ni sépalos visibles. Las masculinas son más grandes y aparecen en inflorescencias racimosas llamadas amentos, que miden unos 5-10 centímetros de longitud.

El fruto del nogal común se clasifica como una drupa y no es precisamente una nuez. En Botánica, las nueces consisten en una semilla y una cáscara dura, en tanto las drupas tienen una capa interna dura con una semilla en su interior y dos capas externas duras o carnosas. Esta última descripción concuerda con las características del fruto del nogal, aunque en el habla coloquial se le llama nuez de Castilla o simplemente nuez. En inglés, se le llama walnut. Cuenta con una semilla dulce comestible y su forma recuerda la de un cerebro humano. ("Árbol De Nogal Común, Nuez De Castilla - Bioenciclopedia" 2020).

### 4.1.3. Atributos del Nogal

Existen aplicaciones varias para las diferentes partes aprovechables del Nogal:

La madera del nogal es muy apreciada por su dureza, color, textura y aspecto. Se utiliza muchísimo para la fabricación de muebles. El color del nogal va de marrón claro a color chocolate oscuro y la albura puede tener tonalidades grisáceas e incluso amarillas. La madera es semipesada,



en torno a los 650 kg/m<sup>3</sup>. Grano grueso con fibra recta. Es muy

Figura 2 Tablón de Nogal. Fuente: <https://catalogo.maderasacuna.es/producto/madera-de-nogal/>

estable dimensionalmente, es decir, resiste muy bien los cambios de temperatura sin cambiar sus dimensiones y grado de humedad, le afectan en menor medida que a otras maderas. Muy fácil de trabajar, tiene un excelente comportamiento con los mecanizados, encolados e incluso en la aplicación de toda clase de acabados. Se puede trabajar tanto a mano como con maquinaria.

Usos de la madera como chapa decorativa de madera, fabricación de mobiliario de calidad y/o ebanistería, suelos, carpintería de interior (puertas, ventanas, frisos, molduras, mangos) y pequeños objetos como escopetas o bolígrafos.

Las hojas y la cáscara verde y la corteza tienen propiedades astringentes. De esta última se obtiene un barniz conocido con el nombre de nogalina, que se utiliza para teñir otras maderas. Así mismo,



Figura 3 hojas de nogal y cascara de la nuez. Fuente. "Árbol De Nogal Común, Nuez De Castilla - Bioenciclopedia" 2020



el aceite de la semilla es vermífugo y tiene fama de provocar la expulsión de la tenia solitaria (parásito intestinal). Las hojas son hipoglucemiantes y se toman en forma de infusión para combatir la diabetes. Las hojas se pueden tomar frescas o secas en infusión, se pueden añadir al baño, se pueden tomar en tintura, en cataplasma para las aplicaciones sobre la piel y también se puede utilizar en aceite.

El fruto, la nuez, es utilizada como alimento por sus buenas propiedades alimenticias.



Figura 4 Nuez.

Fuente: [https://www.alimente.elconfidencial.com/bienestar/2020-05-03/propiedades-beneficios-nueces\\_1900282/](https://www.alimente.elconfidencial.com/bienestar/2020-05-03/propiedades-beneficios-nueces_1900282/)

## **4.2.Sección 2. Fundamento teórico.**

### **4.2.1. Estructura de las células vegetales.**

Las células pueden aparecer aisladas o agrupadas formando organismos pluricelulares. En ambos casos la célula es la estructura más simple a la que consideramos viva. Hoy se reconocen tres linajes celulares presentes en la Tierra: las arqueas y las bacterias, que son procariotas unicelulares, y las células eucariotas, que pueden ser unicelulares o formar organismos pluricelulares. Las procariotas (anterior al núcleo) no poseen compartimentos internos rodeados por membranas, salvo excepciones, mientras que las eucariotas (núcleo verdadero) contienen orgánulos membranosos internos. Uno de los compartimentos membranosos de las eucariotas es el núcleo.

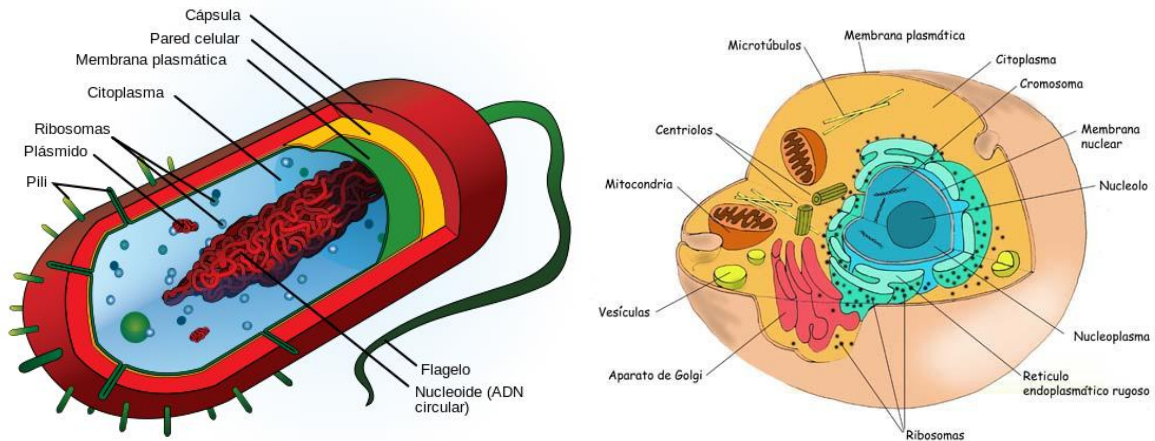


Figura 5. Células. Fuente: Educandose.com

Toda célula, procariota o eucariota, es un conjunto de moléculas altamente organizado. De hecho, posee numerosos compartimentos con funciones definidas. Vamos a considerar a un compartimento celular como un espacio, delimitado o no por membranas, donde se lleva a cabo una actividad necesaria o importante para la célula. Uno de los compartimentos presentes en todas las células es la membrana plasmática o plasmalema, que engloba a todos los demás compartimentos celulares y permite delimitar el espacio celular interno del externo.

La célula eucariota posee compartimentos internos delimitados por membranas. Entre éstos se encuentra el núcleo, delimitado por una doble unidad de membrana, en cuyo interior se encuentra el material genético o ADN que contiene la información necesaria para que la célula pueda llevar a cabo las tareas que permiten su supervivencia y reproducción. Entre el núcleo y la membrana plasmática se encuentra el citosol, un gel acuoso que contiene numerosas moléculas que intervienen en funciones estructurales, metabólicas, en la homeostasis, en la señalización, etcétera. Cabe destacar a los ribosomas en la producción de proteínas, al citoesqueleto para la organización interna de la célula y para su movilidad, a numerosos enzimas y cofactores para el metabolismo y a muchas otras moléculas más. Entre la membrana celular y el núcleo se encuentran también los orgánulos, que son compartimentos rodeados por membrana que llevan a cabo funciones como la digestión, respiración, fotosíntesis, metabolismo, transporte intracelular, secreción, producción de energía, almacenamiento, etcétera. Las mitocondrias, los cloroplastos, los peroxisomas, los

lisosomas, el retículo endoplasmático, o las vacuolas, entre otros, son orgánulos. El citoplasma es el citosol más el conjunto de orgánulos.

Las células vegetales son células eucariotas con una serie de características que diferencian a las células de los animales.

Presentan **cloroplastos**: son orgánulos rodeados por dos membranas, atrapan la energía electromagnética derivada de la luz solar y la convierten en energía química mediante la fotosíntesis, utilizando después dicha energía para sintetizar azúcares a partir del CO<sub>2</sub> atmosférico.

**Vacuola central**: una gran vacuola en la región central es exclusiva de los vegetales, constituye el depósito de agua y de varias sustancias químicas, tanto de desecho como de almacenamiento. La presión ejercida por el agua de la vacuola se denomina presión de turgencia y contribuye a mantener la rigidez de la célula, por lo que el citoplasma y núcleo de una célula vegetal adulta se presentan adosados a las paredes celulares. La pérdida del agua resulta en el fenómeno denominado plasmólisis, por el cual la membrana plasmática se separa de la pared y condensa en citoplasma en el centro del lumen celular.

**Pared celular**: es tal vez la característica más distintiva de las células vegetales. Le confiere la forma a la célula, cubriéndola a modo de exoesqueleto y le da la textura a cada tejido, siendo el componente que le otorga protección y sostén a la planta. (Biologia.edu.ar. 2020).

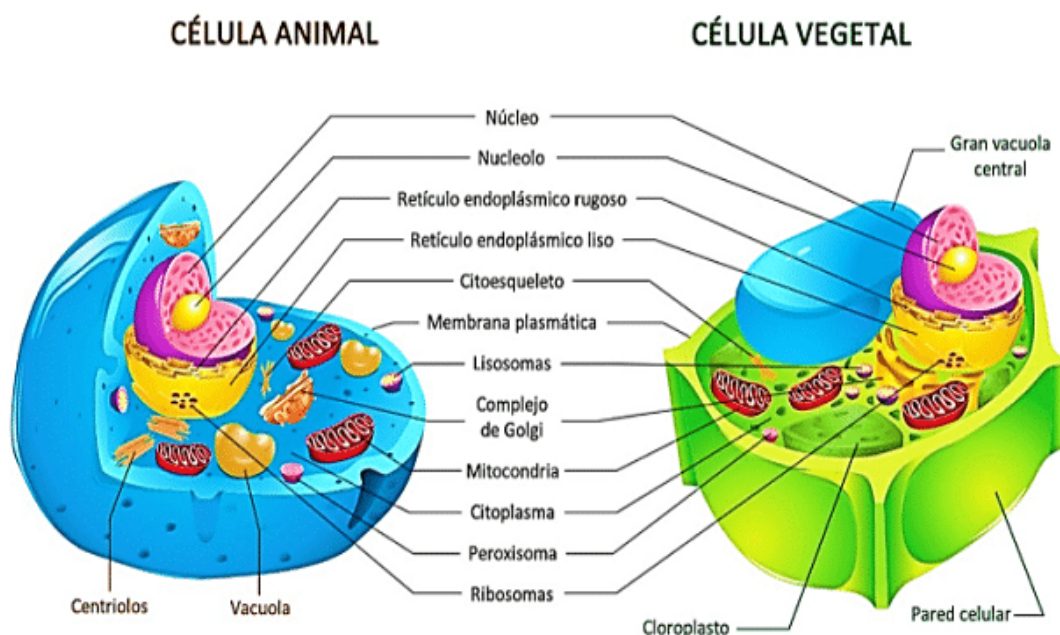


Figura 6. Célula animal Vs célula vegetal. Fuente: <https://biologia.literaturamagica.net/diferencias-entre-celula-animal-y-vegetal/>

Todas las células están constituidas por cuatro tipos de componentes químicos (macromoléculas): proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y polisacáridos.

El conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituye el metabolismo. La mayor parte del carbono, del nitrógeno y de la energía termina en moléculas comunes a todas las células, necesarias para

su funcionamiento y el de los organismos. Se trata de aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas y desempeñando las mismas funciones. Se denominan metabolitos primarios (Fig. 7). (Megías, M., 2020).

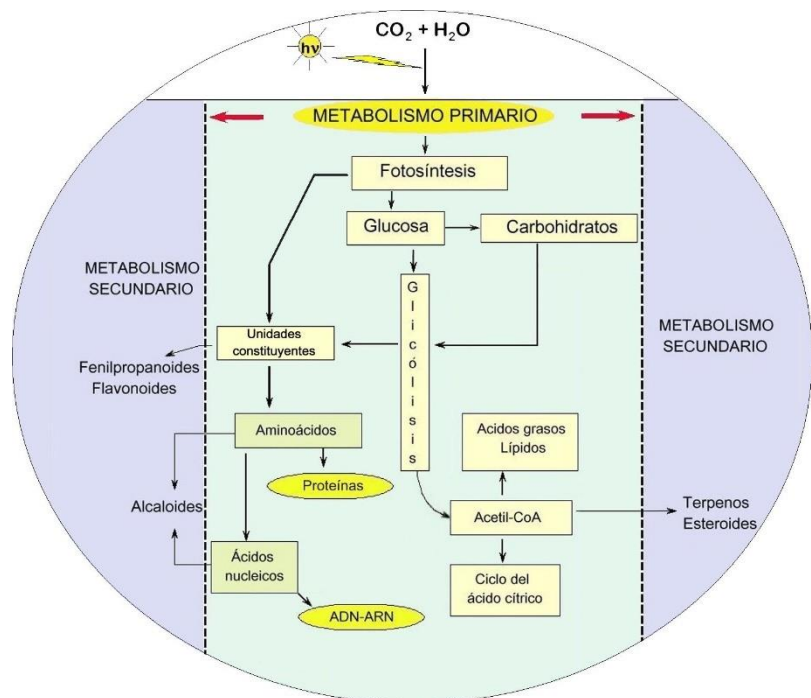


Figura 7 Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas. Fuente: Ávalos et Pérez 2009

### 4.2.2. Metabolitos secundarios Taninos.

Pero a diferencia de otros organismos, las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y que se denominan metabolitos secundarios (también denominados productos secundarios, productos naturales) . (Ávalos & Pérez, 2009)

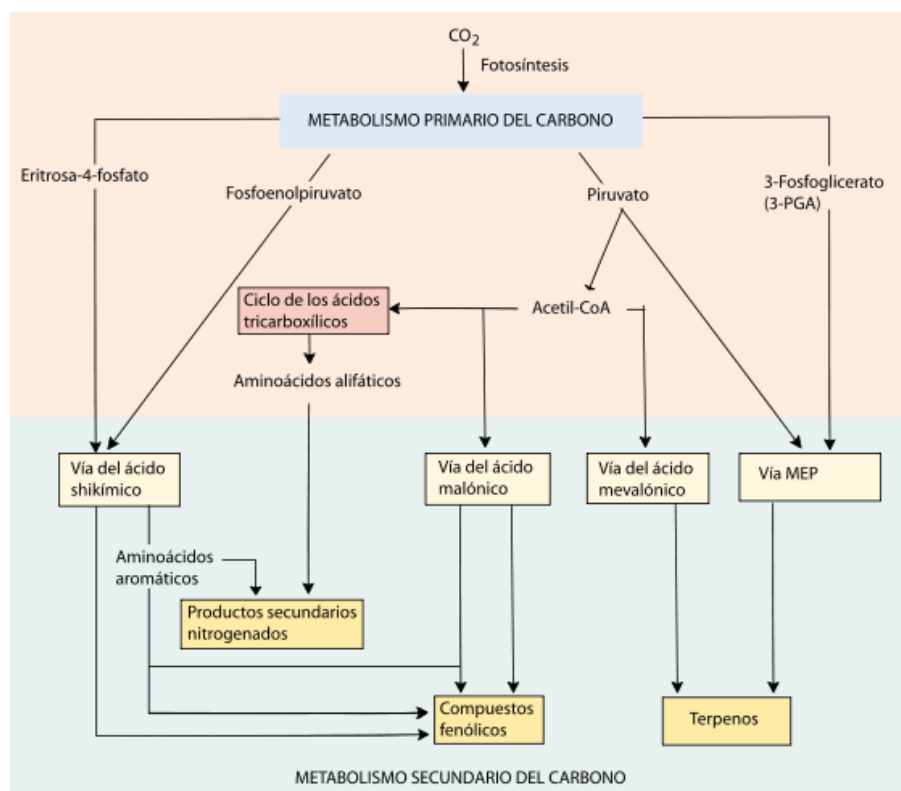


Figura 8. Vías del metabolismo secundario de las plantas que producen los tres tipos generales de compuestos secundarios: productos nitrogenados, productos fenólicos, y terpenoides. También se muestra su relación con el metabolismo primario. Fuente: Plant Physiology, Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13.

#### 4.2.2.1. Función de los taninos en las plantas.

Los metabolitos secundarios además de no presentar una función definida en los procesos mencionados, difieren también de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies.

Algunos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales. Muchos son pigmentos que proporcionan color a

flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores, o atrayendo a animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas.

Otros compuestos tienen función protectora frente a predadores, actuando como repelentes, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales.

Los metabolitos secundarios se agrupan en cuatro clases principales.

**Terpenos.** Son derivados de del isopentenil difosfato, se forman en la ruta del ácido mevalónico. Son clasificados como lípidos. Es el grupo mayoritario de entre los metabolitos secundarios. Entre ellos se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales.

**Glicósidos.** Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardíacos y glicósidos cianogénicos.

**Alcaloides.** Son los que contienen al menos un átomo de nitrógeno en su composición. Son sintetizados a partir de los aminoácidos, son de estructura muy diversa. Tienen muchos usos en medicina, algunos ejemplos conocidos son la morfina y la quinina entre otras muchas sustancias.

**Compuestos fenólicos.** Son derivados de la ruta del ácido Shikímico o por la del acetato/melonato, este grupo se caracteriza por contener un grupo fenol y ser solubles en agua. Algunos ejemplos son las cumarinas, flavonoides, lignina y taninos. (Ávalos et Pérez 2009)

#### **4.2.2.2. Formación de los taninos.**

La formación y la función de los taninos en las plantas es variable y no se conoce totalmente. La formación del tanino en el vegetal está ligada a la función clorofiliana: fenómenos de fotosíntesis dependientes de la luz solar, la clorofila y el CO<sub>2</sub>. Se ha constatado en efecto que, en general, las partes del vegetal expuestas al sol son las más ricas en tanino. Se admite

que los taninos se forman por una transformación de los sacáridos produciendo derivados cíclicos, que sufren condensaciones y oxidaciones variables, que no son en detalle conocidas. En ciertos vegetales los taninos parecen sufrir transformaciones que los hacen partícipes en la formación de lignina. En otros vegetales constituyen un producto intermedio en la elaboración de resinas vegetales ya que se ha constatado que en primavera, cuando la formación de la resina se vuelve más activa, el tanino disminuye. En otros casos, se ha observado que el tanino tiene funciones de protección contra insectos y microorganismos de putrefacción. Esto ha sido constatado debido al hecho que las partes ricas en taninos no son atacadas. En los fenómenos de germinación el tanino actúa como una sustancia de reserva. Por lo tanto, se podría concluir que el rol de un mismo tanino puede ser diferente según las condiciones en las cuales se encuentra la célula que lo contiene (Hon y Shiraishi 2001; De Bruyne et al. 1999).

Existen dos rutas básicas implicadas en la biosíntesis de compuestos fenólicos: la ruta del ácido siquímico y la ruta del ácido malónico. (Ávalos et Pérez 2009)

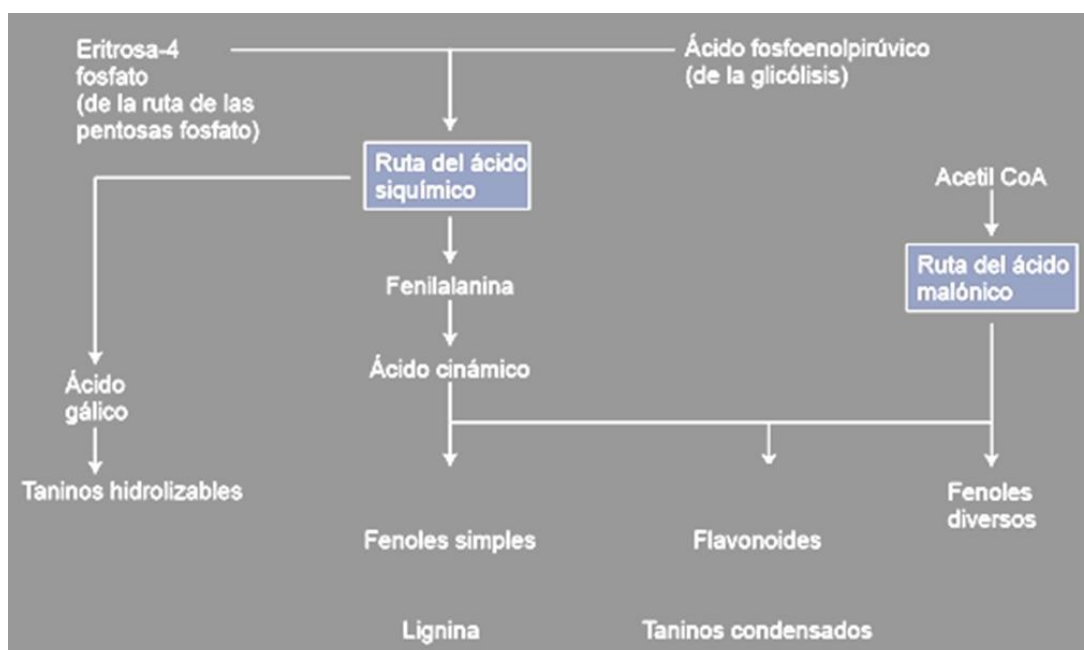


Figura 9. Rutas de síntesis de compuestos fenólicos. Fuente: Ávalos et Pérez 2009

#### 4.2.2.3. Aplicaciones de los taninos.

Los taninos han tenido siempre aplicaciones tradicionales en diferentes sectores, como la industrial de tintes y pigmentos, fabricación de cuero con curtición vegetal, industria textil,



industria maderera, donde se utilizan como adhesivos. En las últimas décadas también han surgido otros sectores que aprovechan este metabolito secundario, industrias como las farmacéuticas, cosméticas y alimentarias. En la actualidad se siguen buscando nuevas aplicaciones para los taninos, de hecho algunas líneas de investigación los han estudiado y utilizado para el tratamiento de efluentes. También se ha visto que son útiles en la absorción y recuperación de metales, agricultura orgánica, tintas anticorrosivas y otras aplicaciones de estos polímeros naturales.

En el sector de curtición los taninos se enlazan con la proteína de la piel animal, para estabilizarla y transformarla a lo que conocemos como cuero, evitando que éste se pudra y confiriéndole resistencia física y química. También en el sector de la curtición se han hecho numerosos estudios para reducir la formación de cromo hexavalente con la ayuda del poder reductor de los taninos.

Los taninos son compuestos que pueden formar quelatos, y esta propiedad se utiliza para la obtención de tintes al reaccionar con metales y para el tratamiento de efluentes ya que ayuda a precipitar metales pesados. Esta misma propiedad es la que muchas industrias farmacéuticas utilizan para fabricar productos contra algunos alcaloides o sales metálicas dañinas.

Como es bien sabido los taninos tienen propiedades antioxidantes al poder reaccionar con radicales libres, por esto se utilizan en la industria cosmética.

Al ser productos poliméricos que pueden formar resinas son fácilmente utilizables en la industria de adhesivos.

#### **4.2.3. Composición de los extractos vegetales.**

Los extractos vegetales son productos naturales que contienen:

- **Taninos.** Son los compuestos curtientes, son compuestos de carácter fenólicos, según su procedencia varia su estructura y composición.
- **No taninos.** Se trata de hidratos de carbono, ácidos orgánicos, fenoles de menor magnitud molecular que los taninos, sales, proteínas y otros compuestos. Estos



productos no curten, pero influyen en la curtición, modificando por ejemplo la relación [ácido]/[sal] que influye en la curtición.

- **Insolubles.** Son sustancias insolubles en agua como su nombre indica, procedentes de la materia vegetal. Buscamos extractos vegetales con poca materia insoluble. (Morera, 2002)

#### 4.2.3.1. Tipos de los extractos vegetales.

Las materias primeras en la curtición vegetal son los taninos naturales, disponibles en forma líquida o en polvo, que se obtienen de diversas partes de plantas como son la madera, corteza, hojas, raíces, frutos y vainas. Las partes de la planta que contienen taninos son trituradas y lixiviadas con agua con el fin de extraerlos.

Químicamente los taninos son mezclas complejas formadas por polifenoles de alto peso molecular, entre 500 y 3000. También es importante que tengan un número suficiente de grupos -OH para poder establecer suficientes puentes de hidrogeno con el colágeno en el caso de la curtición.

Los taninos se clasifican según su estructura química y naturaleza química en dos grandes grupos: Taninos catequínicos o condensados (por hidrólisis en medio ácido y ebullición que forman productos solubles en agua) y taninos pirogálicos o hidrolizables (por hidrólisis en medio ácido y ebullición que forman precipitados en agua). (Morera, 2002)

##### 4.2.3.1.1. Taninos catequínicos o condensados.

Los taninos condensados conocidos genéricamente como poliflavonoides o proantocianidinas están constituidos por flavonoides con diferentes grados de condensación (flavan-3-ol y flavan-3,4-diol) así como otros flavonoides análogos, carbohidratos y trazas de amino e imino ácidos.

La estructura básica de los taninos se presenta en la figura 10.

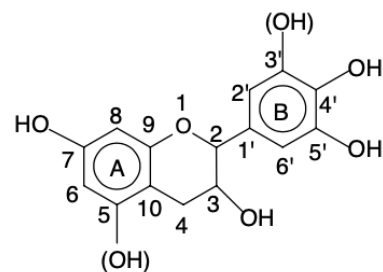


Figura 10. Estructura básica de los taninos condensados. Fuente: Sebasti & Ambiente, 2009

Las estructuras básicas que componen los taninos están unidas unas con otras mediante enlaces C -C y C -C (Roux et al. 1975 y 1980). Varios autores proponen como mecanismo de condensación flavonoide (en medio ligeramente ácido) la protonación del hidroxilo en la posición 4 del compuesto flavan-3,4-diol, con la pérdida inmediata de una molécula de agua y la posterior formación del carbocatión en este sitio, al cual se unen las unidades flavonoides por los centros nucleofílicos disponibles 6 u 8.

Mediante técnicas de análisis como  $^{13}\text{C}$ -NMR y CP-MAS se han diferenciado cuatro estructuras básicas habituales en los extractos tánicos, que difieren en el número de grupos hidroxilo que presentan en el anillo A y B. Se distinguen así:

- **Profisetinidina**, compuesta de resorcinol como anillo A y catecol como anillo B.
- **Prorobinetinidina**, con resorcinol en el anillo A y en el B pirogalol.
- **Procianidina**, compuesto por fluoroglucinol y catecol en los anillos A y B respectivamente.
- **Prodelfinidina**, compuesto por fluoroglucinol en el anillo A y pirogalol en el B.

Estas diferencias en la estructura, confieren a los taninos comportamientos característicos bien definidos. Así, por ejemplo, se ha comprobado que los taninos con estructuras profisetinidina y prorobinetinidina son menos reactivos que la procianidina y prodelfinidina

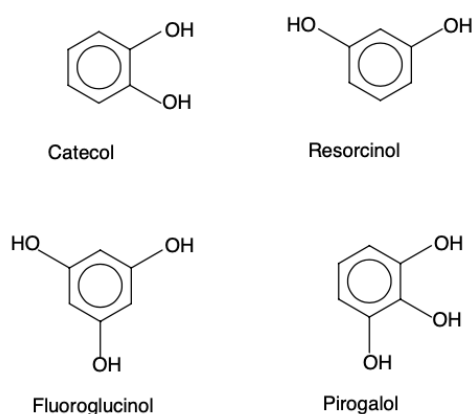


Figura 11 Estructuras posibles de los anillos A y B. Fuente: Sebasti & Ambiente, 2009

Hay que tener en cuenta que como mayor sea el polímero más astringente será el tanino. (Sebasti & Ambiente, 2009)

#### 4.2.3.1.2. Taninos pirogálicos o hidrolizables.

Los taninos hidrolizables son ésteres, habitualmente formados por una molécula de azúcar (en general glucosa), unidos a un número variable de moléculas de ácidos fenólicos (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico).

Las uniones éster se hidrolizan fácilmente por la acción de los ácidos y las enzimas liberando azúcares y ácidos fenol-carboxílicos. Según la naturaleza de los ácidos fenol-carboxílicos liberados se dividen en taninos gálicos y taninos elágicos.

- **Taninos gálicos:** consiste en una glucosa esterificada con cinco moléculas de ácido metadigálico (peso molecular aproximado 1600) o ácido gálico (peso molecular aproximado 940).
- **Taninos elágicos:** son aquellos taninos que tras la hidrólisis de un éster libera ácido hexahidroxidifenico, el cual adquiere su forma de lactona, la cual es insoluble en agua y se conoce como ácido elágico.

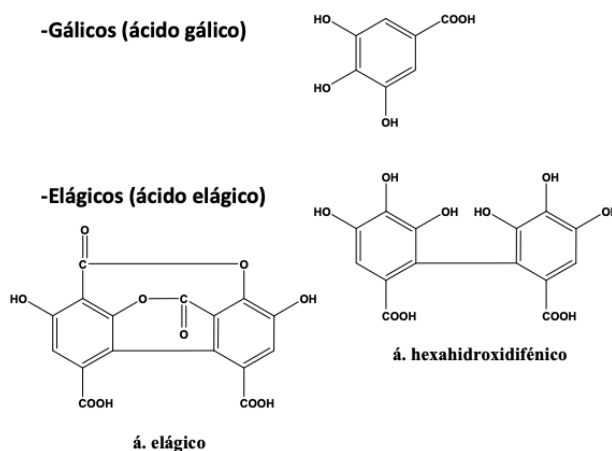


Figura 12 Á. gálico y Á elágico. Fuente: Sebasti & Ambiente, 2009

A continuación, una tabla con algunos ejemplos de taninos hidrolizables y condensados de algunos árboles y sus localizaciones.

PARTE PLANTA	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	TIPO DE TANINO
<b>Madera</b>	Castaño	Castanea sativa	Hidrolizable
	Alcornoque	Quercus suber	
	Roble	Quercus pedunculata	Hidrolizable
	Quebracho	Schinopsis balansae	Condensado
	Mimosa	Acacia mollissima	Condensado
<b>Corteza</b>	Pino	Pinus hapelensis	Condensado
		Pinus radiata	
	Encina	Quercus ilex	Condensado
		Quercus pedunculata	
	Roble	Quercus robur	Hidrolizable
		Quercus suber	
	Zumaque	Rhus coriaria	Hidrolizable
	Mirto	Myrtus communis	Hidrolizable
<b>Hojas</b>	Aliso	Alnus glutinosa	Hidrolizable
		Alnus jorulensis	
	Tara	Caesalpinea spinosa	Hidrolizable
		Caesalpinea tinctoria	
	Divi-divi	Caesalpinea coriarea	Hidrolizable
<b>Frutos y vainas</b>	Valonea	Quercus robur	
		Quercus. suber	
	Mirabolano	Terminalis oblonga	Hidrolizable
		Terminalis catappa	
<b>Raíces</b>	Badan	Saxifraga magellanica	Hidrolizable
	Ratania	Krameria trianda	Condensado

Tabla 2. Recursos vegetales empleados para la extracción de taninos.  
Fuente: Sebasti et al., 2009

(Sebasti et al., 2009)

#### 4.2.3.2. Reactividad de los taninos.

Aquí estudiaremos la reactividad de los taninos en el mundo de la curtición ya que nos interesa ver las variables que afectan a su unión con el colágeno.

**Efecto de la concentración:** como todo sólido disuelto existe una concentración crítica para la cual la precipitación de insolubles es máxima. En estas soluciones también se forman micelas de distintos tamaños, esto es muy importante porque a mayor peso molecular la penetración será más lenta y por tanto más astringente.

El pH es el factor más influyente en la fijación del tanino, como sabemos los taninos se fijan sobre el colágeno mediante puentes de hidrogeno ya que la molécula tánica tiene grupos -OH, el número de enlaces varía según el tamaño del polifenol y el número de -OH presentes, pero si trabajamos por debajo del pH 2 el equilibrio  $R-OH \leftrightarrow R-O^- + H^+$  estará desplazado hacia la molécula sin disociar. Por tanto, se formarán muchos agregados que precipitarán sin curtir la piel. A pH superiores a 6 no es aconsejable trabajar ya que los taninos son fácilmente oxidables y nos darían una curtición irregular, incluso a pH superiores a 8 los taninos pierden la capacidad de curtir ya que los grupos fenólicos -OH pasan a fenóxidos  $-O^-$ . Así lo ideal es trabajar a un pH entorno a 3,5-5 para tener las moléculas fenólicas parcialmente disociadas para obtener una buena penetración e ir desplazando el equilibrio poco a poco, y a este pH se asegura también una curtición regular. No es conveniente trabajar a pH inferiores, aunque la penetración sea buena ya que se produce un hinchamiento ácido de la piel provocando roturas que afectaran a las cualidades del producto final. Por supuesto cada extracto tiene una curva de trabajo un poco diferente.

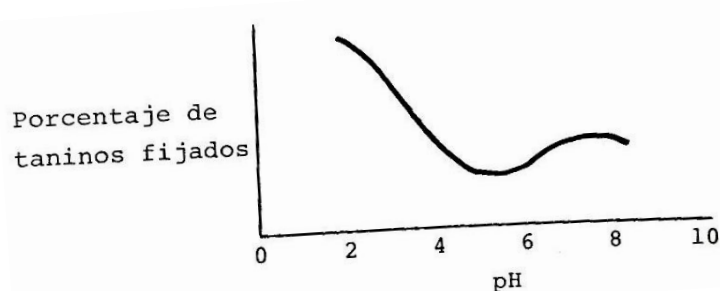


Figura 13 percentage de taninos fijados vs pH. Fuente: Química tecnica de curticion.

Existen otros factores también importantes como la concentración salina, ya que según el tipo y concentración de sal la formación de micelas será mayor o menor, pudiendo precipitar y variar el pH. Otro factor que también influye es la viscosidad, ya que ésta varía según el pH y la temperatura.

Como ya hemos dicho con anterioridad la molécula polifenólica se enlaza mediante su grupo -OH formando un puente de hidrogeno con los grupos peptídicos del colágeno, en concreto por el extremo de la amida. Pero la curtición no consiste sólo en enlace de tanino con el colágeno, para tener curtición los taninos se tienen que unir con más de una fibra de colágeno a la vez, así que los taninos tienen que tener un tamaño comprendido entre  $M > 500$  y  $M < 3000$  para poder realizar estas interconexiones entre fibras de colágeno. Como sabemos

los puentes de hidrogeno son enlaces débiles, pero como la cantidad de enlaces es tan grande el resultado final es de una estabilidad elevada.

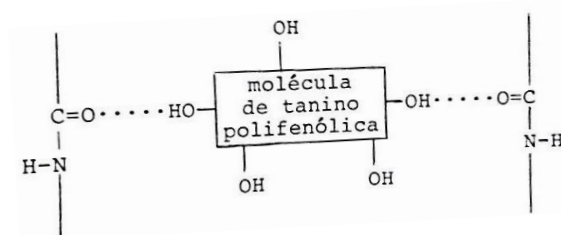


Figura 14. Enlace colageno-tanino.  
Fuente: química tecnica de la curtición

#### 4.2.3.3. Obtención y fabricación de extractos vegetales

El primer paso es recolectar y secar la materia prima, antes de empezar con el proceso de fabricación del extracto. Este paso se hace en cierta época del año donde la producción tánica es máxima y a cierta edad de la planta.

El primer paso consiste en triturar o molturar el material, después se elimina cualquier partícula metálica que se haya podido desprender en el proceso. En este proceso no es conveniente dejar la materia prima en forma de polvo ya que al pasar agua en el proceso de extracción se apelmazaría y dificultaría mucho la extracción, por esto se deja con un tamaño de partícula mayor.

Existen muchos métodos de extracción desde los más rurales hasta los más industrializados, pero los principios son los mismos: se pone la materia prima en tinajas o autoclaves, donde circulará agua a temperatura alta, (en tinajas la temperatura no excederá los 100 grados y en autoclave trabajaremos entre 120 y 130 grados), se ponen estas tinajas o autoclaves a trabajar en batería continua a contracorriente, es decir sobre la tina 1 se pasa agua limpia. Luego esta agua de la tina 1 pasará a la tina 2, y por la tina uno se pasa nuevamente agua limpia, posteriormente el agua de la tina anterior irá a la siguiente según el número de tinajas de las que se disponga, la última tina tendrá siempre materia prima nueva y se pasa el licor más concentrado del resto de las tinajas. Una vez que y se trabaja en continuo solo tiene que poner madera nueva en una tina y cambiar la madera de la primera tina donde ya se han extraído todos los taninos. El licor final lo se filtra antes de pasar al siguiente proceso.

Una vez se tiene ya el licor filtrado se suele dejar reposar para que las partículas que pasaron el filtro sedimenten ya que serán partículas insolubles y luego por decantación pueden eliminar.

El licor decantado se tiene que concentrar mediante evaporación. Posteriormente se realizan tratamientos químicos, con el fin de mejorar su resistencia a degradaciones bacterianas. Muchas veces se suelen sulfitar, para mejorar su penetración y solubilidad a temperaturas bajas.

Por último, el licor se suele secar en concentradores de vacío o bien en atomizadores, para así obtener los taninos en polvo.

#### **4.2.3.4. Principales extractos curtientes comerciales.**

Los taninos son muy numerosos y están repartidos en la naturaleza en más de 750 variedades, pero no todos se pueden utilizar como extractos comerciales ya que es necesario que la planta contenga grandes cantidades de taninos y que estas plantas sean abundantes en la naturaleza. El contenido tánico, dentro de una misma especie depende de varios factores: edad, estación del año (varía en cada estación llegando al máximo en primavera con la renovación de los vegetales) y del lugar geográfico donde se ha desarrollado.

Algunos ejemplos de extractos hidrolizables son:

**Encina**, se obtiene de la madera. Las sustancias curtientes alcanzan del 4% al 7%, se puede utilizar como recurtientes y da cueros de color claro.

**Tara**, es un polvo fino que se obtiene del fruto de la tara que es originario de Perú. Su principal ventaja es que no presenta casi coloración, deja cueros muy claros y con gran solidez a la luz. Da buena plenitud y suavidad, con una concentración aproximada en taninos del 48% es muy utilizada en curtición.

**Castaña**, estos extractos contienen una gran cantidad de grupos ácidos y orgánicos naturales, que dan una fuerte astringencia y la propiedad de reaccionar en gran medida con el colágeno. Es un tanino que confiere a los cueros muy buena solidez a la luz, buena impermeabilidad y un color marrón-verdoso. Estos extractos tienen una concentración tánica del 75% aproximadamente.

**Mirabolano**, se obtiene de los frutos del árbol, que son parecidos a una nuez que crece en determinadas regiones de la India y que confiere al curtido un tono verdoso. Es muy utilizado para la fabricación de suelas debido a su característica de fermentar y producir ácidos, dejando un cuero con tacto lleno y suave. Tiene una concentración tánica entre 35% y 40%.

Zumaque, es un arbusto que suele crecer en la región mediterránea, la curtición con hojas de zumaque es una de las más antiguas que se conocen. Confiere al cuero una buena solidez a la luz, no tiene un carácter muy astringente. La concentración tánica aproximada es del 20% al 30%.

Algunos ejemplos de extractos condensados son:

**Quebracho**, se obtiene de la madera del árbol quebracho que crece en Sudamérica, sobretodo Argentina y Uruguay. Confiere al cuero un color rojizo y poco astringente, gracias a estas características y a la rapidez con que curte pieles pequeñas es muy utilizado para pieles ovinas y caprinas. La concentración tánica puede llegar al 70% o 75% aproximadamente.

**Mimosa**, se extrae de la corteza de este árbol. Existen tres especies que por sus características y zonas donde se desarrollan se conocen como negra, verde y dorada. Es originaria de Australia, pero se reproduce bien en otros países donde el clima, suelo y promedio de lluvia son similares, como Sudáfrica y Brasil. Posiblemente sea uno de los taninos más utilizados a nivel mundial. Se obtienen cueros muy blancos. Es un extracto poco astringente y por tanto con una buena penetración. La concentración tánica aproximada es del 40% al 60%.



## **4.2.4. Principios de la curtición vegetal.**

### **4.2.4.1. Situación actual.**

Antes de entrar en los principios de la curtición vegetal, es importante explicar un poco de la historia y diferentes fases que ha vivido este tipo de curtición de forma muy resumida, para así poder entender el estado actual de la situación.

No existe una fecha exacta para definir el inicio de la curtición vegetal, se cree que la curtición es tan antigua como la humanidad. Esta curtición surgió por la observación que puso en evidencia que cuando una piel en verde entraba en contacto con algunas cortezas de árboles, maderas y ciertas hojas, la piel se manchaba y esas partes manchadas no se pudrían. Se observó que el cuero en contacto con estas plantas quedaba indemne a la putrefacción, lo cual permitía conservar las pieles, que incorporaban ciertas características de morbidez al tacto y cierta elasticidad.

A lo largo de la historia, la curtición vegetal se fue perfeccionando hasta la actualidad. Pero el uso extendido de la curtición vegetal dio un vuelco al introducirse la curtición mineral, al cromo. En 1853 el Francés Cavalin descubrió que las sales de cromo permitían obtener cueros curtidos con características nunca pensadas, como son la resistencia a la ebullición, al desgarre, mejor elasticidad, permeabilidad al vapor. Años después Knapp en 1857 fue el primero en patentar esta curtición y desde entonces el porcentaje de pieles curtidas con cromo fue aumentando. Actualmente más del 80% de todas las pieles se curten de esta manera, debido a factores como la mayor rapidez, mejores características y facilidad de trabajo.

Pero desde hace unas décadas atrás y hasta la actualidad el mercado, usuarios, y estados han empezado a exigir ciertas medidas, para evitar los riesgos que conllevan las pieles curtidas al cromo. La piel se curte con cromo trivalente el cual no presenta ningún riesgo para el usuario, pero un mal procedimiento puede conllevar a la oxidación y formar cromo hexavalente, el cual sí es dañino para el usuario. En 2014 se modificaron algunas normativas REACH que restringían la venta de artículos de cuero con un contenido de cromo hexavalente igual o superior a 3mg/kg: “los artículos con partes de cuero en contacto con la piel no se comercializarán si cualquiera de dichas partes de cuero contiene cromo VI en concentraciones iguales o superiores a 3 mg/kg del peso total en seco del cuero” ((UE)

no301/2014 de la comisión, de 25 de Marzo). A parte de este hecho también se le suma una mala publicidad al sector de curtidos por ciertos ecologistas, no solo por utilizar productos animales sino también por la utilización de metales como el cromo.

Por todo esto en los últimos años se ha estado buscando alternativas al cromo con características parecidas, por un lado. Por otro lado, se ha incrementado un poco el consumo de cueros curtidos al vegetal, ya que utiliza productos más amigables con el consumidor como son los taninos vegetales. Las investigaciones dentro de las líneas de curtición vegetal han venido por dos vertientes: intentar mejorar las características y optimizar el proceso, y la segunda vertiente es buscar nuevos extractos con poder curtiente, pero de materias primas más ecológicas como es la reutilización de subproductos de otras industrias como puede ser la producción de vino o de la explotación forestal del nogal, como es el caso de este trabajo.

#### **4.2.4.2. Curtición.**

La curtición vegetal depende principalmente de 7 factores:

1. **Los tratamientos previos:** son las operaciones de ribera que producen hidrolisis en la proteína. A más ribera más vacía estará la piel y mayor cantidad de puntos reactivos se formarán.
2. **pH:** a pH ácidos las moléculas pueden formar agregados y llegar a precipitar, a pH alcalinos el tamaño de partícula disminuye y aumenta la solubilidad del tanino. Una vez que el colágeno ha penetrado, también es el pH el que influye en la fijación del tanino. La mejor fijación se obtiene a pH de 3,2-3,5. A pH inferiores pueden quedar ácidos residuales en el cuero, a pH 5 la penetración es buena pero la fijación es mala, y a pH superiores, como hemos dicho en apartados anteriores, los taninos se oxidan.
3. **Concentración tánica:** se suele trabajar a concentraciones de 12°Bé a 18°Bé para tener una buena fijación. Aunque tengamos baños con la misma cantidad de taninos, pero de menor concentración la fijación será menor.
4. **Concentración salina:** las sales evitan el hinchamiento ácido y favorecen la penetración de los taninos ya que bloquea temporalmente los puntos reactivos de la piel. Pero hay que tener cuidado de no dejar restos de sales en el producto acabado ya que pueden corroer los objetos metálicos.

5. **Temperatura:** el aumento de temperatura reduce la viscosidad y favorece la penetración. También aumenta la fijación y favorece la atracción de los grupos peptídicos con los dipolos de las moléculas tánicas.
6. **Tiempo:** la curtición exige tiempo para la correcta penetración y fijación, pero también es necesario un tiempo de reposo antes de seguir con el proceso, para evitar posibles lixiviaciones.
7. **Efecto mecánico:** el efecto mecánico acelera la curtición, ya que favorece la penetración y al aumentar la temperatura también favorece la fijación.

La curtición vegetal se puede trabajar en tina o en bombo, según el tipo de artículo se trabaja del 20% al 50% de curtiente. Con esta curtición se pueden hacer muchos artículos, de los cuales algunos de los más destacados son las suelas o la vaquetilla. (Morera, 2002)

### 4.3.Sección 3. Desarrollo experimental.

#### 4.3.1. Estudio preliminar empresa Bosques Naturales.

La empresa Bosques Naturales después de ver diferentes estudios sobre la utilidad del nogal (*Juglans regia*) en medicina, cosmética y otras utilidades creyó interesante realizar un estudio preliminar para evaluar la potencialidad de los extractos y aceites esenciales de hojas y cortezas de nogal (*Juglans x intermedia*) para ser utilizados en la industria que demanda taninos tanto para el curtido de pieles como para la formulación de productos cosméticos, adhesivos y desinfectantes de limpieza.

Con ese fin realizó el siguiente estudio, que cito textualmente.

Se ha realizado una primera tanda de ensayos “**exploratorios**” con muestras pequeñas (5 g) de virutas, costales y restos de poda de nogal. Las extracciones (aprox. 5 g) se realizaron en un baño orbital con agitación y control de temperatura a una velocidad de agitación de 90 rpm.

Para identificar los parámetros que son significativos en el proceso de extracción se aplicó un diseño experimental Plackett-Burman con el que se analiza la influencia de las siguientes variables independientes en los intervalos indicados sobre el rendimiento de extracción y contenido en fenoles totales y capacidad antioxidante FRAP de los extractos:

- **Temperatura (x1):** 40°C - 80°C
- **Relación líquido/sólido (x2):** 1/5 - 1/10 g/ml (para los costales y poda de nogal) y 1/10 - 1/15 g/ml para las virutas de nogal
- **Tiempo (x3):** 30 - 90 min
- **Concentración EtOH (x4):** 0% - 50%

#### **Contenido en fenoles totales y capacidad antioxidante de extractos de nogal**

Dado que tras el primer análisis “exploratorio” se ha considerado tentativamente el nogal como una fuente de extractos más interesante, sobre todo considerando el aprovechamiento de virutas y costales. Se han realizado ensayos más detallados para la caracterización de los extractos del de nogal.

En ese sentido, se han realizado extracciones a mayor escala (entre 250-500 g) por duplicado en un reactor de vidrio Pyrex provisto de agitación mecánica y control de temperatura. El extracto resto se concentra mediante secado por pulverización (“spray-drying”) en un secadero “Büchi mini spray dryer B-191”. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3, donde se muestra el rendimiento, el contenido en fenoles totales y la capacidad antioxidante según los métodos FRAP, DPPH y ABTS de los extractos de nogal analizados.

Resultados de la caracterización “**detallada**” realizada de analizar el contenido en fenoles totales y la capacidad antioxidante.

Este estudio preliminar que realizó la empresa Bosques Naturales estaba más orientado al aprovechamiento de los polifenoles del nogal para el sector de la madera. Después de este estudio la empresa se puso en contacto con la Catedra A3 para ver si también estos polifenoles podrían tener un aprovechamiento en la industria del cuero.

#### **4.3.2. Estudio preliminar**

- **Objetivo**

El objetivo es el análisis del contenido tánico según la norma 14088:2012, correspondiente a la cuantificación de agentes curtientes por el método de filtro.

- **Preparación de la muestra.**

Las muestras ya venían identificadas según su procedencia geográfica.

- N1 Restas de poda, provenientes de Galicia.
- N2 Costales, provenientes de Galicia.
- N3 Madera, proveniente de Extremadura.

Las muestras fueron molidas por dos molinos de cuchillas con una malla metálica de 1 milímetro de medida. Una vez las muestras fueron trituradas, se lixiviaron con agua a 70 grados Celsius para extraer los taninos de acuerdo a la norma.



Figura 15 Diferentes fracciones del análisis según norma. Restos de poda y costales (Iz.); Madera (der). Fuente: Propia

En las imágenes se ven diferentes fracciones del análisis de las tres muestras.

La interpretación de las imágenes es la siguiente: en la probeta se obtienen los no taninos.

En el primer contenedor de muestra se obtienen los sólidos solubles y en el segundo contenedor se obtienen los sólidos totales, este último contenedor contiene lo mismo que el matraz aforado.

#### 4.3.3. Estudio de la relevancia del tamaño del producto en la extracción.

La muestra ya había sido triturada en un molino con láminas de corte y red metálica, hasta obtener un diámetro de partícula aproximado entre 2mm y 1mm.

Este producto se tamizo en un tamiz analítico de laboratorio, de la marca CISA, el modelo BA300N. Este modelo admite más de un tamiz a la vez, así que se utilizaron los siguientes tamices de acero que cumplen con la norma ISO 3310-1 y ASTM E-11-95.



Figura 16. tamiz analítico, CISA, el modelo BA300N. Fuente: Propia

**Tamiz con una luz de diámetro igual a 2.00mm:** en este tamiz solo quedan las partículas con un diámetro mayor a 2 milímetros.

**Tamiz con una luz de diámetro igual a 1.00mm:** en este tamiz solo quedan las partículas con un diámetro mayor a 1 milímetros.

**Tamiz con una luz de diámetro igual a 500 $\mu$ m:** en este tamiz solo quedan las partículas con un diámetro mayor a 0.5 milímetros.

**Tamiz con una luz de diámetro igual a 250 $\mu$ m:** en este tamiz solo quedan las partículas con un diámetro mayor a 250 $\mu$ m.

**Tamiz con una luz de diámetro igual a 100 $\mu$ m:** en este tamiz solo quedan las partículas con un diámetro mayor a 100 $\mu$ m.

**Tamiz con una luz de diámetro igual a 50 $\mu$ m:** en este tamiz solo quedan las partículas con un diámetro mayor a 50 $\mu$ m. Debajo de este había un recipiente donde se recogían las partículas con un diámetro inferior a 50 $\mu$ m.

La finalidad de este tamizado es ver cómo influye el tamaño de partícula a la extracción de los taninos, ya que como menor sea la partícula, mayor superficie de contacto tendrá con las sustancias líquidas que utilizemos para el extracto.

#### **4.3.3.1. Metodología Experimental.**

Para escoger la metodología se hizo algunas pruebas para ver cuales eran las condiciones ideales para realizar este proceso. Finalmente escogimos las siguientes condiciones de la maquina CISA BA 300N

- Tiempo  $\rightarrow$  8 minutos
- Amplitud  $\rightarrow$  1,8mm
- Ciclos  $\rightarrow$  6,5 segundos de trabajo 3,5 segundos de reposo.
- Platos  $\rightarrow$  200mm, 100mm, 500 $\mu$ m, 250 $\mu$ m, 100 $\mu$ m, 50 $\mu$ m.

Para asegurar el buen funcionamiento y evitar la obturación de los tamices se hacen cargas de 37-43 gramos en cada ciclo, y a su vez se realiza una retirada del producto filtrado para seguir garantizando que los tamices no se obturen.

#### **4.3.4. Caracterización de los taninos por HPLC.**

Los extractos vegetales varían según la planta de la cual se extraen y del tratamiento al cual son sometidos. Por esto, resulta necesario llevar a cabo una caracterización completa del tipo de tanino obtenido usando el extracto de los diferentes subproductos del nogal. La

caracterización se lleva a cabo mediante el análisis de los extractos acuosos utilizando la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y *metodología de separación en fase reversa*. Se utiliza una columna de Waters tipo XBridge Fenilo 3.5 $\mu$ m 4.6mm x 150 mm en esta experimentación.

#### 4.3.4.1. Preparación de las muestras.

Se realiza una disolución acuosa del polvo de cada subproducto en una relación 1/10 con agua de calidad mili-Q. Esto se realiza en un agitador mecánico durante 10 minutos para conseguir una buena extracción.

Las soluciones son filtradas dos veces, a diferentes medidas del poro del filtro, el primer filtro era un filtro de papel, mientras que el último de ellos era de nylon con poro de 0'45 $\mu$ m y 13mm de diámetro, para evitar la contaminación de la columna del cromatógrafo.

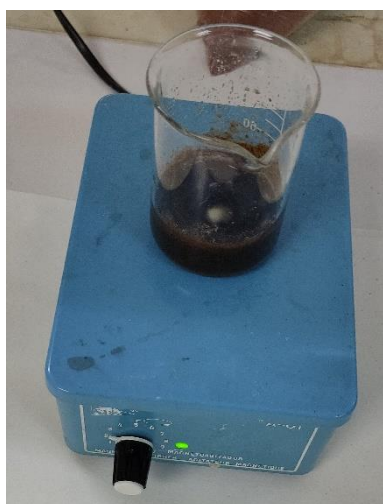


Figura 17. Agitador magnético de laboratorio. Fuente: Propia



Figura 18. Filtrado de las muestras a analizar. Fuente: Propia

La longitud de onda de captura de los cromatogramas es de 271.1nm ya que en esta longitud hay un buen compromiso entre los taninos hidrolizables y los condensados.

#### 4.3.4.2. Interpretación de los cromatogramas de los datos obtenidos por HPLC.

La identificación del tipo de taninos se realiza mediante la comparación de los espectros UV de los picos del cromatograma con los de una librería digital. Los cromóforos de los polifenoles del tipo catequínico, galotaninio o elagitanino, son diferentes entre sí, lo que permite la clasificación de cada polifenol encontrado en la muestra en unos de estos grupos,



aunque no se tenga identificada completamente su estructura ni se conozca su peso molecular.

Para la identificación completa de una molécula es necesario que haya una coincidencia exacta en el tiempo de retención y el espectro cromatográfico con alguno de los compuestos ya incorporados en la librería digital.

La biblioteca digital con la que contamos ya tiene muchas muestras de extractos comerciales y muchos otros patrones, pero hay que tener en cuenta que se trata de una librería anticuada que es necesario actualizar y que los tiempos de retención también varían según la columna con la que se identificaron.

#### **4.3.4.3. Condiciones cromatográficas.**

Se ha trabajado con el HPLC en fase reversa, con una fase móvil polar. A continuación, las condiciones de análisis:

Fase móvil A: agua con un 0,1% de ácido fórmico.

Fase móvil B: acetonitrilo con 0,1% de ácido fórmico

Composición 95% / 5%.

Flujo de la fase móvil: 1.000mL/min

Temperatura de la columna: 35°C

Tiempos programados por cada muestra: calibración inicial de 15 minutos, tiempo de análisis de la muestra 34,50 minutos, limpieza con acetona antes de inyectar la siguiente muestra de 20 minutos.

## 4.4. Sección 4. Resultados y conclusiones.

### 4.4.1. Resultados del estudio preliminar llevado a cabo en la empresa Bosque verde.

A continuación, los resultados obtenidos por la empresa Bosques Naturales en los dos experimentos llevados a cabo de forma preliminar, como vemos son en base al ácido gálico.

Especie	Muestra	Tipo de extracción	Rendimiento (%)	FRAP (nmol AAE/mg extracto)	Fenoles totales (g GAE/100 g extracto)
Nogal	Virutas	Varios*	3,43-7,04	1907-2915	21,70-38,74
	Costales	Varios*	4,24-9,75	1006-1760	14,53-30,86
	Poda	Varios*	3,03-6,26	533-1703	8,80-26,28

Tabla 3. Resultados de la caracterización exploratoria realizada de los extractos de nogal.

Fuente: Bosques Naturales

Varios → agua y agua +etanol.

Resultados de la caracterización “**detallada**” realizada de analizar el contenido en fenoles totales y la capacidad antioxidante.

Muestra	Tipo	Rdto (%)	FRAP (nmol AAE/mg extracto)	Fenoles totales (g GAE/100 g extracto)	DPPH		ABTS	
					TRE/g extracto	EC50 (mg/ml)	nmol TRE/g extracto	EC50 (mg/ml)
Virutas	A	3,7	2140±14	26,07±0,48	2,36±0,00	0,067±0,00	2,60±0,10	0,521±0,02
	E-A	7,8	2685±31	36,27±0,69	3,25±0,04	0,049±0,001	2,95±0,01	0,459±0,00
Costales	A	12,6	1254±48	16,44±0,22	1,22±0,02	0,129±0,002	1,38±0,04	1,054±0,03
Poda	A	7,3	993±159	13,09±2,07	0,89±0,11	0,180±0,022	1,20±0,17	1,232±0,18

A: Acuosa. E-A: Etanol-agua

Tabla 4 Resultados de la caracterización “detallada” realizada de los extractos de nogal analizando el contenido en fenoles totales y la capacidad antioxidante. Fuente: Bosques Naturales

Viendo estos resultados se decidió hacer un estudio más detallado para ver la viabilidad de utilizar estas materias como agentes curtientes.

#### 4.4.2. Contenido tánico según la norma 14088:2012.

Una vez llegaron las muestras de la empresa, se realizó el estudio de contenido tánico según la norma ISO14088 de los tres subproductos de la explotación forestal del nogal, correspondiente a la cuantificación de agente curtientes por el método de filtro.

Los resultados de este análisis de los tres subproductos se resumen en la siguiente tabla

Parámetros	N1. Restes de poda	N2. Costales	N3. Fusta
No taninos	1.4	1.8	1.2
Solubles	4.1	4.6	2.4
Totales	59.5	32.7	55.3
Taninos	2.8	2.8	1.2
Insolubles	55.3	28.1	52.9
Agua	40.5	67.3	44.7
pH	6.8	5.6	5.6

Tabla 5. Tabla resumen de los parámetros analizados de las diferentes muestras.  
Fuente: Propia

Las muestras de madera aparentemente presentan virutas de hierro, y este interacciona con los polifenoles produciendo un ennegrecimiento y reducción del contenido tánico.

#### 4.4.3. Estudio de la relevancia del tamaño del producto en la extracción.

##### 4.4.3.1. Balance de materia.

Para realizar este balance de materia se tienen que tener en cuenta que se trata de un sistema sin reacción química y por tanto la materia no experimenta ningún tipo de cambio químico. Además, en este caso tampoco hay cambios físicos, ya que solo se está realizando un trabajo de separación por tamaño de materia con el tamiz.

		Poda	Costales	Madera
	Materia inicial	479,02g	463,2g	135,21g
% respecto a la materia total	tamiz 500mm	3,62%	1,26%	0,77%
% respecto a la materia total		46,59%	44%	44,91%
% respecto a la materia de entrada	tamiz 250mm	48,35%	44,56%	45,25%

% respecto a la materia total		33,78%	36,32%	38,07%
% respecto a la materia de entrada	tamiz 100mm	67,87%	66,26%	71,50%
% respecto a la materia total		11,28%	14,77%	6,94%
% respecto a la materia de entrada	tamiz 50mm	70,51%	80,22%	44,95%
% respecto a la materia total		3,26%	1,96%	5,78%
% respecto a la materia de entrada	menos 50mm	69,10%	54,08%	68%

Tabla 6 Balance de materia del tamizado de las muestras.  
Fuente: Propia

Había una pérdida porcentual de materia del 1,46% en la muestra de poda, un 1.68% en la muestra de costales y un 2.73% en la muestra de madera, esta materia es la que no podemos recoger de los tamices y pérdidas en los traspasos.

#### 4.4.4. Caracterización de los taninos por HPLC.

Para este estudio se inyectan las diferentes muestras de cada una de las partes de la exploración forestal del nogal, de acuerdo al método descrito en el apartado experimental. En la figura 19 se puede observar como ejemplo uno de los cromatogramas como (referenciado como N3 250  $\mu$ m). En esta figura se puede ver diferentes picos, cada pico corresponde a una molécula; la librería de A3 Center reconoce algunos picos y muchos otros no, algunos de los que reconoce son cromóforos como se ha explicado en apartados anteriores.

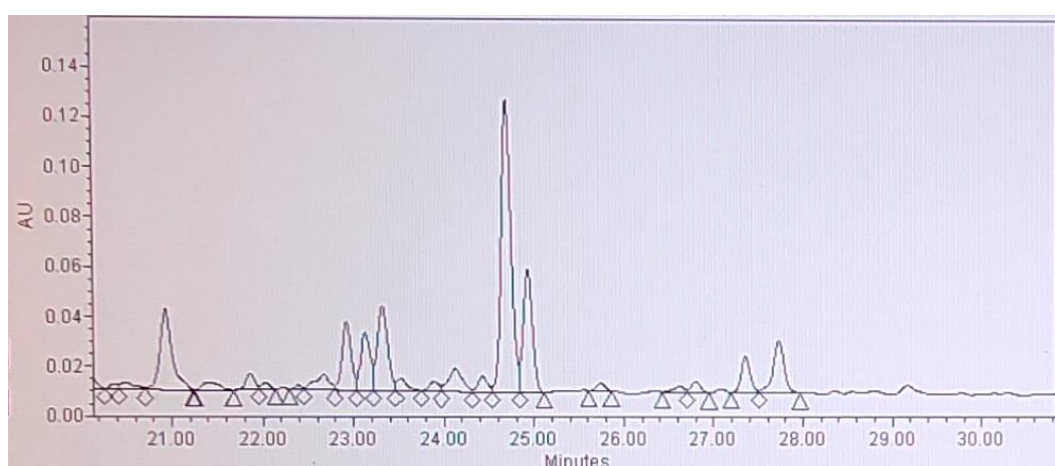


Figura 19 cromatograma referenciado como N3 250  $\mu$ m. Fuente: Propia

El programa para cada pico da el tiempo de retención, área, % de área, y si hay alguna coincidencia con la librería entre otros datos. También se puede ver la curva de cada molécula como veremos a continuación con tres curvas.

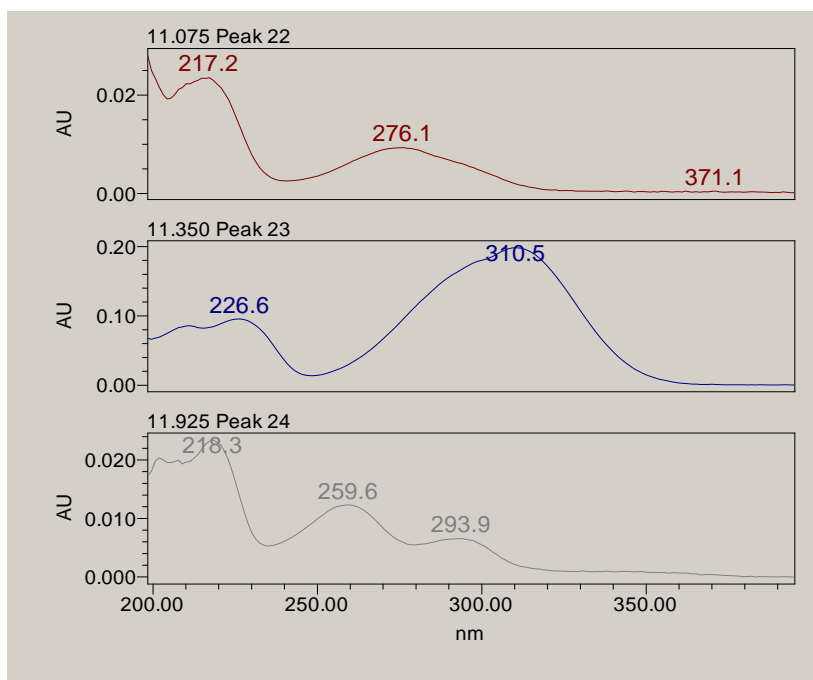


Figura 20. Picos cromatográficos de la muestra referenciado como N2 100  $\mu$ m. Fuente: Propia

Estas curvas son de la muestra N2 100  $\mu$ m y corresponden a las siguientes moléculas.

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
22	11,08	Gallotannin, chestnut, 15.2min	84680,85	0,48
23	11,35	Cumaric Acid peak1 200ng	659816,32	3,77
24	11,92	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	114337,69	0,65

Tabla 7 Tabla resumen de los picos vistos en la figura 20 muestra referenciado como N2 100  $\mu$ m. Fuente: Propia

A continuación, se pueden ver los resultados obtenidos en forma de tabla del resto de muestras, las tablas al completo y las curvas de cada pico estarán en anexos.

N1 500 $\mu$ m:

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
7	3,022	Gallic Acid, 3.3min	111759,66	3,7
17	11,577	Cumaric Acid peak1 200ng	45113,28	1,49
18	12,102	Acid vanilic 40 ppm	88945,46	2,94
21	14,011	Gallotannin, sumac, 11.5min	210113,38	6,95

Tabla 8 Tabla resumen de la muestra referenciado como N1 500  $\mu$ m. Fuente: Propia

N1 250µm:

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
3	2,459	Tanino catequónico de Mimosa 33.0-33.5min aprox.	136924,4	4,01
5	2,979	Gallotannin, sumac, 10.4min	93704,43	2,74
16	11,396	Cumaric Acid peak1 200ng	77072,46	2,26
17	11,949	Ácid vanílico 40 ppm	85033,45	2,49
20	13,852	Tanino gálico de la Tara 3.9min aprox.	175082,83	5,13
25	16,713	Cumaric Acid peak1 200ng	27049,99	0,79

Tabla 9 Tabla resumen de la muestra referenciado como N1 250 µm. Fuente: Propia

N1 100µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
12	5,191	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	28956,26	0,81
16	11,455	Cumaric Acid peak1 200ng	92218,43	2,59
17	11,998	Ácid vanílico 40 ppm	63302,44	1,78
20	13,882	Tanino gálico de la Tara 3.9min aprox.	119961,56	3,37
26	16,709	Cumaric Acid peak1 200ng	40165,88	1,13

Tabla 10. Tabla resumen de la muestra referenciado como N1 100 µm. Fuente: Propia

N1 50µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
10	5,21	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	55709,33	1,18
15	11,45	Cumaric Acid peak1 200ng	161845,5	3,42
16	11,99	Ácid vanílico 40 ppm	58905,28	1,24
18	13,86	Gallotannin, sumac, 11.5min	124439,1	2,63
26	16,72	Cumaric Acid peak1 200ng	75314,62	1,59
38	22,64	Oak component, 33.4min	51825,27	1,1
47	25,69	Tanino catequónico restos poda 20C_1h, 21.31min, 101219	26677,44	0,56
48	26,74	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 16.74min, 121219	6287,28	0,13

Tabla 11 Tabla resumen de la muestra referenciado como N1 50 µm. Fuente: Propia

N1 < 50 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
5	3,01	Gallotannin, sumac, 10.4min	223.209,36	4,08
11	5,23	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	69.083,01	1,26
15	9,73	Gallotannin, tara, 9.9min	53.693,02	0,98
18	11,52	Cumaric Acid peak1 200ng	208.645,56	3,82
19	12,06	Acid vanilic 40 ppm	75.239,06	1,38
23	13,95	Tanino gálico de la Tara 3.9min aprox.	113.727,39	2,08
31	16,79	Cumaric Acid peak1 200ng	104.098,46	1,9
53	25,79	Tanino catequínico restos poda 5%Meta_4, 21.27min, 041219	23.670,84	0,43
54	26,86	Tanino catequínico restos poda 5%Meta, 16.74min, 121219	7.475,61	0,14

Tabla 12. Tabla resumen de la muestra referenciado como N1 < 50 µm. Fuente: Propia

N2 500 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
5	3,00	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1955409,31	13,25
6	3,55	Chestnut component, 5.2min	227894,24	1,54
10	5,24	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	429607,75	2,91
16	11,22	Gallotannin, chestnut, 15.2min	42341,25	0,29
17	11,51	Cumaric Acid peak1 200ng	445690,36	3,02
18	12,07	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	58091,15	0,39
19	12,26	Chestnut component, 5.2min	45040,67	0,31
22	13,96	Gallotannin, sumac, 11.5min	107515,09	0,73
31	16,82	Cumaric Acid peak1 200ng	285337,22	1,93
33	17,25	Cumaric Acid peak1 200ng	37758,04	0,26
41	20,14	Ellagitannin, roldor, 20.2min	28841,45	0,20
49	22,42	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	202480,30	1,37
64	26,73	Ellagic Acid	43975,91	0,30
65	26,86	Tanino catequínico restos poda 5% H2SO4, 22.90min, 181219	16816,65	0,11

Tabla 13. Tabla resumen de la muestra referenciado como N2 500 µm. Fuente: Propia

N2 250 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
1	2,04	Tanino catequínico de Mimosa 33-34min aprox.	84430,80	0,68
6	3,02	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1808137,59	14,64
11	5,26	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	392141,96	3,17
17	11,27	Gallotannin, chestnut, 15.2min	50921,41	0,41
18	11,56	Cumaric Acid peak1 200ng	383715,34	3,11
20	12,94	Catechin Gallate 200ng, 23.0min	90861,86	0,74
21	14,00	Gallotannin, sumac, 11.5min	125036,35	1,01

30	16,84	Cumaric Acid peak1 200ng	251133,35	2,03
32	17,27	Cumaric Acid peak1 200ng	39107,56	0,32
39	20,18	Ellagitannin, roldor, 20.2min	14184,85	0,11
46	22,47	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	205627,03	1,66
49	22,93	Oak component, 33.4min	28671,50	0,23
62	26,89	Tanino catequónico restos poda 20C_1h, 29.48min, 101219	23925,50	0,19

Tabla 14. Tabla resumen de la muestra referenciado como N2 250 µm. Fuente: Propia

N2 100 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
5	2,98	Gallic Acid 200ng, 3.2min	3000638,62	17,13
15	5,16	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	757370,40	4,32
22	11,08	Gallotannin, chestnut, 15.2min	84680,85	0,48
23	11,35	Cumaric Acid peak1 200ng	659816,32	3,77
24	11,92	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	114337,69	0,65
28	13,81	Gallotannin, sumac, 11.5min	113221,60	0,65
37	16,64	Cumaric Acid peak1 200ng	367524,49	2,10
39	17,07	Cumaric Acid peak1 200ng	72338,14	0,41
56	22,17	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	476518,54	2,72
68	25,65	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 19.29min, 101219	27942,39	0,16
72	26,71	Tanino catequónico restos poda 20C_1h, 29.48min, 101219	26873,11	0,15

Tabla 15. Tabla resumen de la muestra referenciado como N2 100 µm. Fuente: Propia

N2 50 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
4	2,60	Pico en extracto de castaño aprox. 15.5min	506100,27	2,99
5	2,99	Ácido gálico 3.3-3.6min	3567137,36	21,08
15	5,17	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	1009785,13	5,97
21	11,07	Gallotannin, chestnut, 15.2min	87775,54	0,52
22	11,34	Cumaric Acid peak1 200ng	758737,66	4,48
24	11,92	Ácido vanílico 40 ppm	99172,49	0,59
28	13,82	Gallotannin, sumac, 11.5min	127447,42	0,75
37	16,61	Cumaric Acid peak1 200ng	453579,28	2,68
39	17,05	Cumaric Acid peak1 200ng	137397,79	0,81
54	22,15	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	495606,21	2,93
67	25,63	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 19.29min, 101219	26665,28	0,16
71	26,68	Tanino catequónico restos poda 5% H2SO4, 22.90min, 181219	30899,06	0,18

Tabla 16. Tabla resumen de la muestra referenciado como N2 50 µm. Fuente: Propia



N2 <50 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
3	2,50	Gallotannin, sumac, 17.3min	231225,96	1,29
4	2,59	Pico en extracto casta±o aprox 10.7min	406615,03	2,27
5	2,97	Gallic Acid 200ng, 3.2min	3132977,53	17,49
13	5,18	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	797112,08	4,45
20	11,18	Gallotannin, sumac, 11.5min	67930,16	0,38
21	11,43	Cumaric Acid peak1 200ng	672143,47	3,75
27	13,88	Gallic Acid, 3.2min	123758,21	0,69
36	16,68	Cumaric Acid peak1 200ng	326363,27	1,82
38	17,13	Cumaric Acid peak1 200ng	81424,94	0,45
53	22,14	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	262294,11	1,46
55	22,76	Holm oak component, 33.2min	29834,30	0,17
71	26,76	Tanino catequϕnico restos poda, 22.98min, 101219	37563,99	0,21

Tabla 17. Tabla resumen de la muestra referenciado como N2<50 µm. Fuente:

N3 500 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
3	2,35	Elagitannino del Casta±o 17-18 min aprox.	243587,48	2,79
4	2,51	Gallotannin, sumac, 23.1min	361042,76	4,13
5	2,60	Chestnut component, 4.1min	162596,97	1,86
6	2,67	Gallotannin, chestnut, 15.2min	255255,48	2,92
7	2,99	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1490172,87	17,06
8	3,50	Chestnut component, 3.0min	285474,67	3,27
10	4,16	Chestnut component, 3.0min	19109,67	0,22
12	4,62	Gallotannin, roldor, 17.4min	31146,27	0,36
16	6,69	Cumaric Acid peak1 200ng	30173,90	0,35
18	11,19	Gallotannin, sumac, 12.2min	45392,41	0,52
20	12,02	Gallotannin, roldor, 15.9min	157939,45	1,81
21	12,23	Chestnut component, 4.1min	130597,79	1,49
22	12,89	Gallotannin, sumac, 10.4min	169710,02	1,94
29	15,24	Gallotannin, sumac, 16.7min	95764,02	1,10
36	17,56	Ellagitannin, roldor, 16.5min	72176,11	0,83
41	20,03	Ellagitannin, roldor, 20.2min	206507,40	2,36
42	20,91	Ellagitannin, roldor, 16.5min	324437,11	3,71
47	22,62	Catechin Gallate 200ng, 23.0min	53021,12	0,61
48	22,88	Gallotannin, roldor, 19.1min	188525,94	2,16
54	24,40	Ellagitannin, roldor, 20.2min	44414,88	0,51
56	24,91	Ellagitannin, roldor, 20.2min	392408,14	4,49
60	27,32	Elagitannino del Casta±o 33-34 min aprox.	139482,74	1,60

Tabla 18. Tabla resumen de la muestra referenciado como N3 500 µm. Fuente: Propia

N3 250 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
2	2,32	Chestnut component, 5.2min	376184,80	4,09
3	2,36	Elagitanino del Casta±o 17-18 min aprox.	315631,93	3,43
4	2,51	Gallotannin, sumac, 23.1min	437498,64	4,75
6	2,67	Gallotannin, sumac, 23.1min	322849,17	3,51
7	2,99	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1826432,15	19,84
8	3,51	Chestnut component, 3.0min	199644,87	2,17
9	3,69	Chestnut component, 2.9min	20059,79	0,22
13	4,94	Sinapic Acid 200ng, + de 21min	28861,25	0,31
14	5,08	Chestnut component, 2.9min	84903,49	0,92
22	12,90	Gallotannin, sumac, 11.5min	149114,54	1,62
27	14,33	Chestnut component, 2.9min	64347,35	0,70
40	20,06	Ellagitannin, roldor, 20.2min	213325,76	2,32
43	20,94	Ellagitannin, roldor, 16.5min	309215,90	3,36
48	22,67	Catechin Gallate 200ng, 23.0min	67569,86	0,73
49	22,93	Gallotannin, roldor, 19.1min	185982,29	2,02
55	24,43	Ellagitannin, roldor, 20.2min	46208,50	0,50
57	24,94	Ellagitannin, roldor, 20.2min	343308,18	3,73
59	26,62	Ellagic Acid 200ng, 21.3min	20152,88	0,22
61	27,36	Elagitanino del Casta±o 33-34 min aprox.	104826,10	1,14

Tabla 19. Tabla resumen de la muestra referenciado como N3 250 µm. Fuente: Propia

N3 100 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
2	2,32	Chestnut component, 5.2min	402371,42	4,99
3	2,35	Elagitanino del Casta±o 17-18 min aprox.	295959,07	3,67
4	2,51	Gallotannin, sumac, 23.1min	416947,68	5,17
6	2,67	Gallotannin, chestnut, 15.2min	344738,72	4,28
7	2,99	Gallic Acid 200ng, 3.2min	2020229,11	25,06
9	3,51	Pico en extracto de casta±o aprox. 6.1min	145891,14	1,81
14	4,93	Sinapic Acid 200ng, + de 21min	50932,67	0,63
15	5,20	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	24987,73	0,31
19	11,99	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	60025,15	0,74
20	12,88	Gallotannin, sumac, 11.5min	127745,75	1,58
24	14,07	Patr±n (-)- Epicatechin gallate (50ppm)	38149,08	0,47
26	15,16	Cumaric Acid peak1 200ng	18295,19	0,23
31	16,66	Cumaric Acid peak1 200ng	12391,92	0,15
37	20,03	Ellagitannin, roldor, 20.2min	111362,79	1,38
45	22,90	Gallotannin, roldor, 19.1min	148829,25	1,85
46	23,11	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	127571,02	1,58
53	24,90	Ellagitannin, roldor, 20.2min	165321,46	2,05
56	27,31	Ellagic Acid, roldor, 21.3min	42367,37	0,53

Tabla 20. Tabla resumen de la muestra referenciado como N3 100 µm. Fuente: Propia

N3 50  $\mu$ m

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
2	2,32	Chestnut component, 5.2min	710975,53	8,68
3	2,51	Gallotannin, sumac, 23.1min	431463,81	5,27
5	2,67	Gallotannin, chestnut, 15.2min	320289,12	3,91
6	2,99	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1901160,79	23,22
7	3,50	Chestnut component, 3.0min	152446,95	1,86
12	4,92	Sinapic Acid 200ng, + de 21min	37628,45	0,46
14	5,20	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	35248,44	0,43
19	12,01	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	60217,66	0,74
21	12,88	Gallotannin, sumac, 11.5min	136167,80	1,66
28	15,17	Cumaric Acid peak1 200ng	24604,62	0,30
33	16,67	Cumaric Acid peak1 200ng	21489,30	0,26
39	20,03	Ellagitannin, roldor, 20.2min	140310,53	1,71
46	22,90	Gallotannin, roldor, 19.1min	153809,17	1,88
47	23,11	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	145522,62	1,78
54	24,90	Ellagitannin, roldor, 20.2min	230624,61	2,82
58	27,31	Ellagic Acid, roldor, 21.3min	65174,27	0,80

Tabla 21. Tabla resumen de la muestra referenciado como N3 50  $\mu$ m. Fuente: Propia

N3 <50  $\mu$ m

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area
2	2,34	Elagitanino del Casta±o 17-18 min aprox.	2354041,02	21,63
3	2,62	Gallotannin, sumac, 4.0min	290105,91	2,67
4	2,83	Gallic Acid, 3.2min	1915212,40	17,60
5	3,20	Pico en extracto de casta±o aprox. 6.1min	171451,75	1,58
7	3,66	Elagitanino del Casta±o 17-18 min aprox.	37630,19	0,35
10	4,64	Sinapic Acid 200ng, + de 21min	18584,72	0,17
12	4,98	Gallotannin, sumac, 17.3min	91511,89	0,84
15	9,20	Gallotannin, chestnut, 17.6min	58362,39	0,54
17	11,09	Cumaric Acid peak1 200ng	53898,39	0,50
18	11,75	Vanillic Acid 300ng, 14.0min	96377,82	0,89
20	12,59	Gallic Acid, 3.2min	175650,44	1,61
22	13,17	Gallotannins, tara, 23.9min	35658,04	0,33
32	16,54	Cumaric Acid peak1 200ng	27143,48	0,25
39	19,42	Ferulic Acid 200ng	13806,27	0,13
41	19,95	Ellagitannin, roldor, 20.2min	207582,79	1,91
43	20,82	Ellagitannin, roldor, 16.5min	436658,49	4,01
50	22,84	Gallotannin, roldor, 19.1min	246459,27	2,26
56	24,35	Ellagitannin, roldor, 20.2min	47000,87	0,43
58	24,86	Ellagitannin, roldor, 20.2min	314851,28	2,89

Tabla 22. Tabla resumen de la muestra referenciado como N3<50  $\mu$ m. Fuente: Propia

Las moléculas que se han encontrado y han coincidido según la librería es debido al algoritmo de los espectros UV de los picos del cromatograma.

En el anexo se adjuntan los espectros de cada pico de todas las muestras, así en el futuro cuando la librería digital esté actualizada se podrán comparar los tiempos de retención y los espectros de cada pico cromatográfico para buscar nuevas coincidencias y caracterizar un mayor porcentaje los polifenoles del nogal.

Al leer diferentes bibliografías se vio que los taninos del nogal eran hidrolizables. Al ver los espectros y coincidencias de muchos picos se ha visto que así ha sido, como por ejemplo el ácido gálico, el ácido sináptico, el ácido camarico, entre otros, cuyos pesos moleculares y estructura química conocemos. Pero también se han encontrado otros cromóforos de polifenoles hidrolizables, de los cuales no tenemos información de la estructura química ni el peso molecular y por eso están identificados como egalitanino del castaño por poner un ejemplo. También observamos sobre todo en los resultados de la muestra N1 que se aprecian algunos polifenoles catequínicos, lo cual es debido a que la forma espectral era parecida, pero vemos que el tiempo de retención no es nada parecido. El siguiente paso es comparar cada pico obtenido para poder validar los resultados.

#### **4.4.5. Recomendaciones.**

Para futuros estudios sobre la viabilidad de la aplicación de extractos del nogal en el mundo de la curtición, es necesario recomendar unos futuros pasos o líneas de trabajo.

Primero es necesario cuantificar los polifenoles presentes en la muestra, construyendo rectas a partir de muestras patrón de diferentes concentraciones, e inyectadas bajo las mismas condiciones y columna, podrían utilizarse patrones como el ácido gálico que ha sido un compuesto común en la mayoría de muestras. De esta forma se podría extrapolar las concentraciones gracias a las áreas que nos da el HPLC y la concentración conocida de nuestros patrones.

El siguiente paso sería identificar qué parte del árbol de nogal tiene mayor concentración de fenoles, y en que tamaño de partícula el rendimiento es mayor. Una vez hecho esto se podría proceder a solubilizar.

La solubilización es un paso fundamental para mejorar la extracción de taninos, una de las mezclas más comunes es agua/metanol, pero sería conveniente probar con diferentes solventes y proporciones.

Después de este paso sería conveniente realizar un estudio de análisis de tanino acorde con el método UNE-EN ISO 14088:2012 Cuero. Ensayos químicos. Análisis cuantitativo de los agentes curtientes por el método del filtro (conocido como método de campana) para así averiguar el contenido de taninos. Aunque es un experimento que lleva tiempo, la ejecución y el cálculo es simple.

Y para acabar el estudio se tendría que realizar una aplicación y comprobar resultados. Se sugiere hacer una muestra patrón o blanco con un extracto vegetal comercial, una curtición con los taninos sin realizar ninguna modificación, y una última curtición con los taninos después de solubilizar.

Una vez realizado toda esta parte se podría decidir si los extractos vegetales del nogal, de las muestras propuestas por la empresa Bosques Naturales, es viable para la utilización en el mundo de los curtidos.

## 5. Bibliografía.

- Árbol De Nogal Común, Nuez De Castilla - Bioenciclopedia". 2020. *Bioenciclopedia*.  
<https://www.bioenciclopedia.com/nogal-comun>.
- Angélica Vazquez-Flores, Alma, Emilio Alvarez-Parrilla, Abraham Wall, and Laura A De La Rosa. 2012. "Taninos Hidrolizables y Condensados: Naturaleza Química, Ventajas y Desventajas de Su Consumo." *TECNOCENCIA Chihuahua* VI (2): 84–93.  
<https://www.researchgate.net/publication/277816258>.
- Ávalos, A., and E. Pérez. 2009. "Metabolismo Secundario de Plantas. REDUCA." *Reduca* 2 (3): 119–45. <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>.
- "Celula Vegetal". 2020. *Biologia.Edu.Ar*.  
[http://www.biologia.edu.ar/plantas/cell\\_vegetal.htm](http://www.biologia.edu.ar/plantas/cell_vegetal.htm).
- Coello, Jaime, Míriam Piqué, and Teresa Baiges. 2017. "El Nogal Híbrido (*Juglans X Intermedia*) Y El Nogal Común (*J. Regia*) Para Madera De Calidad". Centre de la Propietat Forestal. <https://silo.tips/download/el-nogal-hibrido-y-el-nogal-comun-j-regia-para-madera-de-calidad-juglans-x-inter>.
- Eke Bayramoglu, Eser, Ersin Onem, and Ali Yorgancioglu. 2012. "Reduction of Hexavalent Chromium Formation in Leather with Various Natural Products (*Coridothymus Capitatus*, *Olea Europaea*, *Corylus Avellana*, and *Juglans Regia*)." *Ekoloji* 120 (84): 114–20. <https://doi.org/10.5053/ekoloji.2011.8413>.
- Fukuda, Toshiyuki, Hideyuki Ito, and Takashi Yoshida. 2003. "Antioxidative Polyphenols from Walnuts (*Juglans Regia* L.)." *Phytochemistry* 63 (7): 795–801.  
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00333-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00333-9).
- Guaminga Curicama, Lupe Marlene. 2011. "Utilización De Tres Taninos Vegetales Con Diferentes Niveles En La Curación De Piel De Cuy". Riobamba: Escuela superior politécnica de Chimbarazo.
- Hurtado Manrique, Paola, Bertha Jurado Teixeira, Eva Ramos Llica, and María Calixto Cotos. 2015. "Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de *Juglans Neotropica Diels* (Nogal Peruano) *Rev. Soc. Qu Perú* 81 (3): 283–91.
- Isaza Martínez, José H. 2007. "Taninos o Polifenoles Vegetales." *Scientia Et Technica* 13 (33): 13–18. <https://doi.org/0122-1701>.
- Jahanban-Esfahlan, Ali, Alireza Ostadrahimi, Mahnaz Tabibiazar, and Ryszard Amarowicz. 2019. "A Comparative Review on the Extraction, Antioxidant Content and Antioxidant

- Potential of Different Parts of Walnut (*Juglans Regia* L.) Fruit and Tree.” *Molecules* 24 (11). <https://doi.org/10.3390/molecules24112133>.
- Jakopič, Jerneja, Robert Veberič, and Franci Štampar. 2009. “Ekstrakcija Fenolnih Snovi Iz Zelenih Plodov Oreha z Različnimi Topili.” *Acta Agriculturae Slovenica* 93 (1): 11–15. <https://doi.org/10.2478/v10014-009-0002-4>.
- Mahoney, N., R. Molyneux, J. Kim, B. Campbell, A. Waiss, and A. Hagerman. 2010. “Aflatoxigenesis Induced in *Aspergillus Flavus* by Oxidative Stress and Reduction by Phenolic Antioxidants from Tree Nuts.” *World Mycotoxin Journal* 3 (1): 49–57. <https://doi.org/10.3920/WMJ2009.1185>.
- Manuel Megías, Manuel Ángel Pombal. 2020. "La Célula. 1. Introducción. Origen De Los Eucariotas. Atlas De Histología Vegetal Y Animal". *Mmegias.Webs.Uvigo.Es*. <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/1-origen-eucariotas.php>.
- Morera i Prat, Josep Maria, and Pere Marí i Casanovas. 2002. *Química Técnica De Curtición*. [Igalada]: Consorci Escola Tècnica d'Igalada.
- Okuda, Takuo, Takashi Yoshida, Tsutomu Hatano, Toshitaka Koga, Namiko Toh, and Kaoru Kuriyama. 1982. "Circular Dichroism Of Hydrolysable Tannins-I Ellagitannins And Gallotannins". *Tetrahedron Letters* 23 (38): 3937-3940. doi:10.1016/s0040-4039(00)87748-5.
- Raja, V., S.I. Ahmad, M. Irshad, W.A. Wani, W.A. Siddiqi, and S. Shreaz. 2017. “Anticandidal Activity of Ethanolic Root Extract of *Juglans Regia* (L.): Effect on Growth, Cell Morphology, and Key Virulence Factors.” *Journal de Mycologie Médicale* 27 (4): 476–86. <https://doi.org/10.1016/J.MYCMED.2017.07.002>.
- Rusu, Marius Emil, Ana Maria Gheldiu, Andrei Mocan, Cadmiel Moldovan, Daniela Saveta Popa, Ioan Tomuta, and Laurian Vlase. 2018. “Process Optimization for Improved Phenolic Compounds Recovery from Walnut (*Juglans Regia* L.) Septum: Phytochemical Profile and Biological Activities.” *Molecules* 23 (11). <https://doi.org/10.3390/molecules23112814>.
- Saravia, Cano, Chávez, Cano, Cerezo. 2002. “Extracción y Caracterización de Taninos En Corteza de 3 Especies Forestales Cultivadas En Guatemala,” 47.
- Sebasti, S A N, and Medio Ambiente. 2009. *Escuela Universitaria Politécnica Unibertsitate Eskola Politeknikoa*.
- Sharma, Nandini, Partha Ghosh, Upendra K. Sharma, Swati Sood, Arun K. Sinha, and Arvind Gulati. 2009. “Microwave-Assisted Efficient Extraction and Stability of Juglone in Different Solvents from *Juglans Regia* : Quantification of Six Phenolic

- Constituents by Validated RP-HPLC and Evaluation of Antimicrobial Activity.” *Analytical Letters* 42 (16): 2592–2609. <https://doi.org/10.1080/00032710903202055>.
- Slatnar, Ana, Maja Mikulic-Petkovsek, Franci Stampar, Robert Veberic, and Anita Solar. 2015. “Identification and Quantification of Phenolic Compounds in Kernels, Oil and Bagasse Pellets of Common Walnut (*Juglans Regia* L.).” *Food Research International* 67 (January): 255–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.016>.
- Wang, Xue Song, Zhi Zhong Li, and Sheng Rong Tao. 2009. “Removal of Chromium (VI) from Aqueous Solution Using Walnut Hull.” *Journal of Environmental Management* 90 (2): 721–29. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.01.011>.



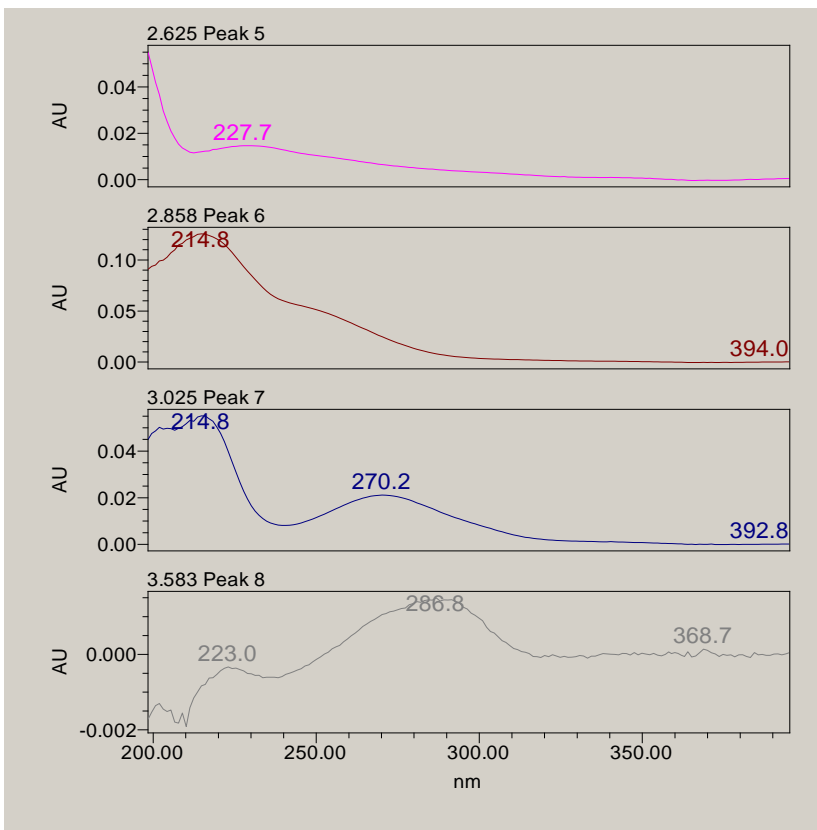
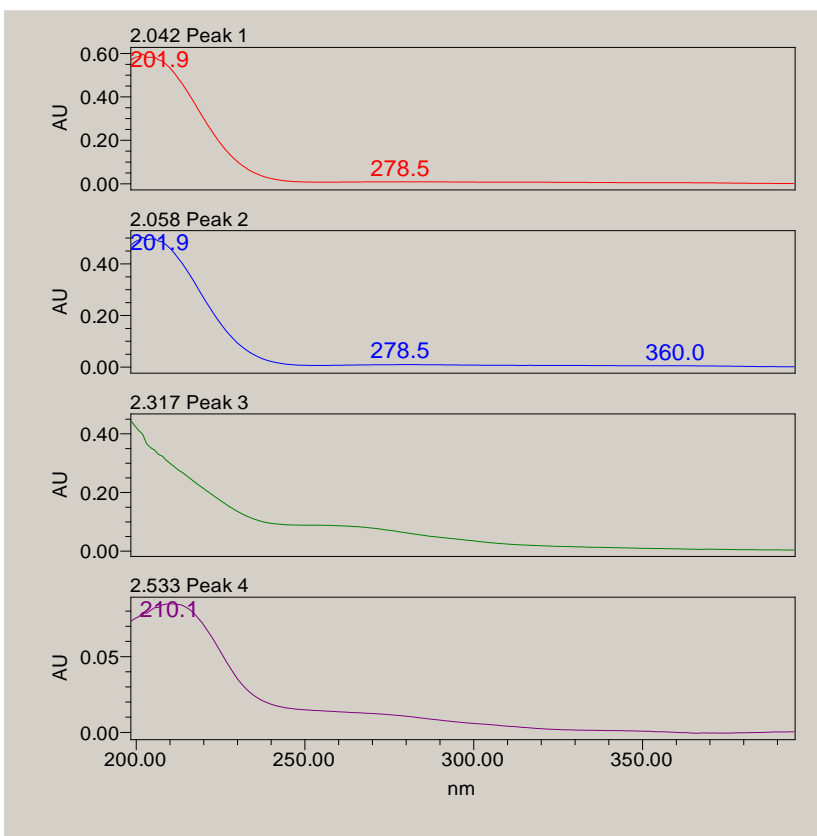
## 6. Anexo I

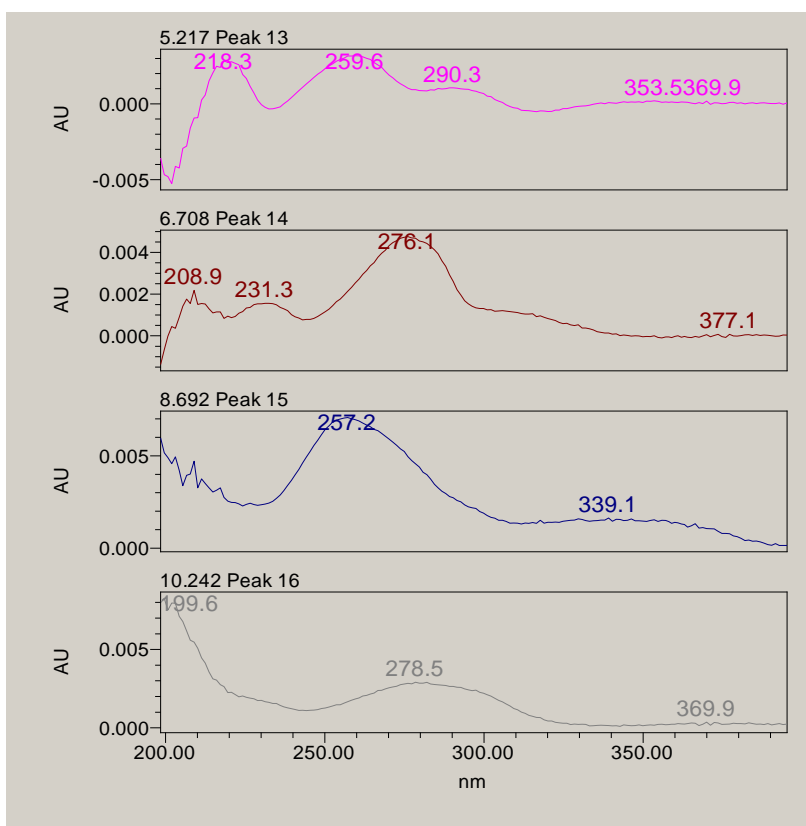
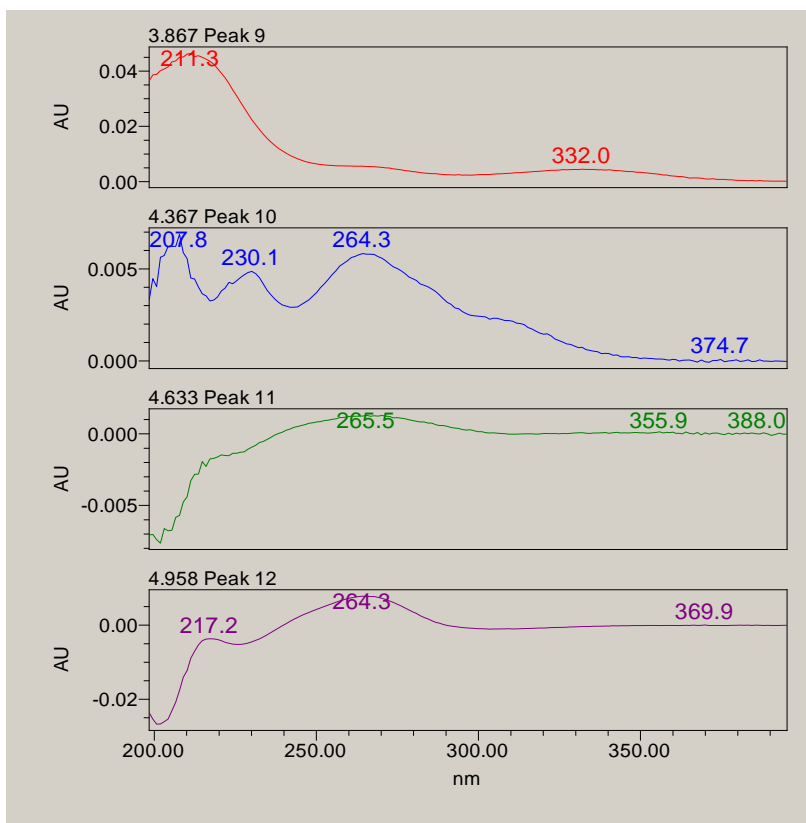
Tablas y figuras completas obtenidas en el cromatógrafo de las tres muestras analizadas.

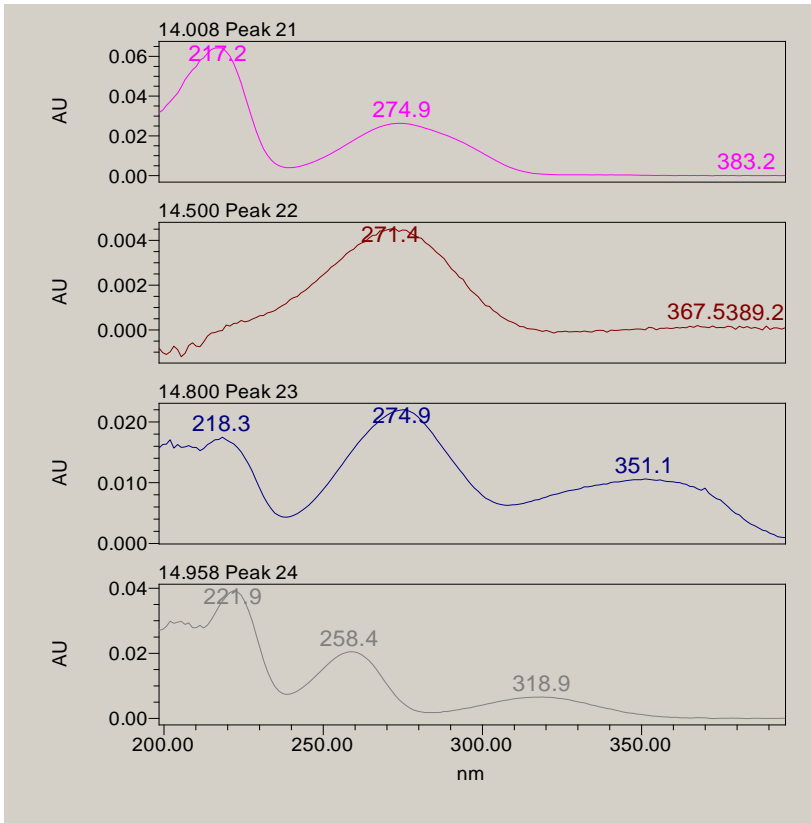
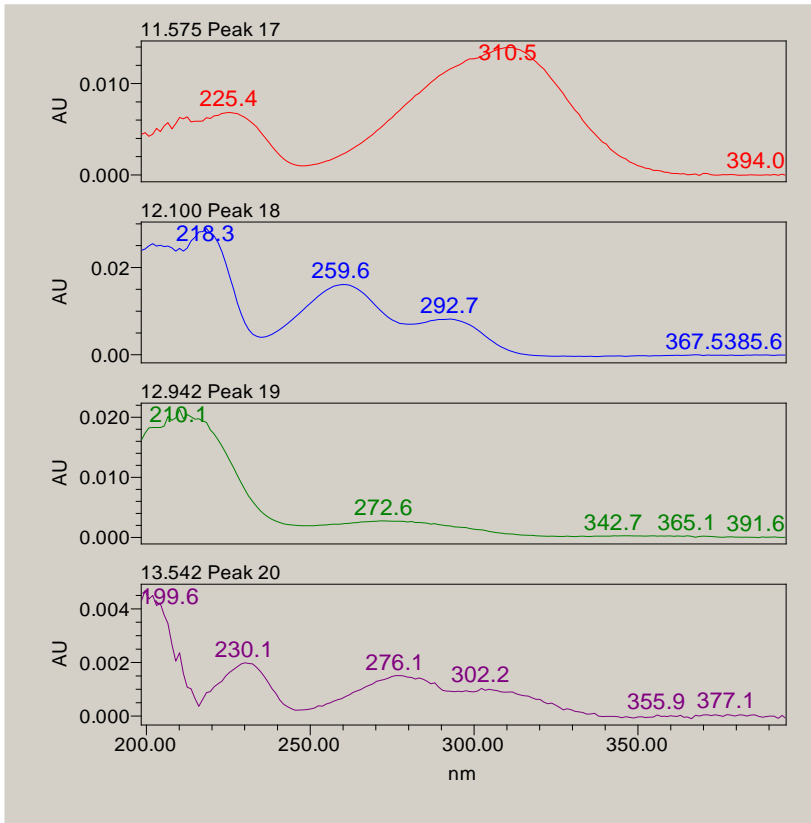
N1 500 µm

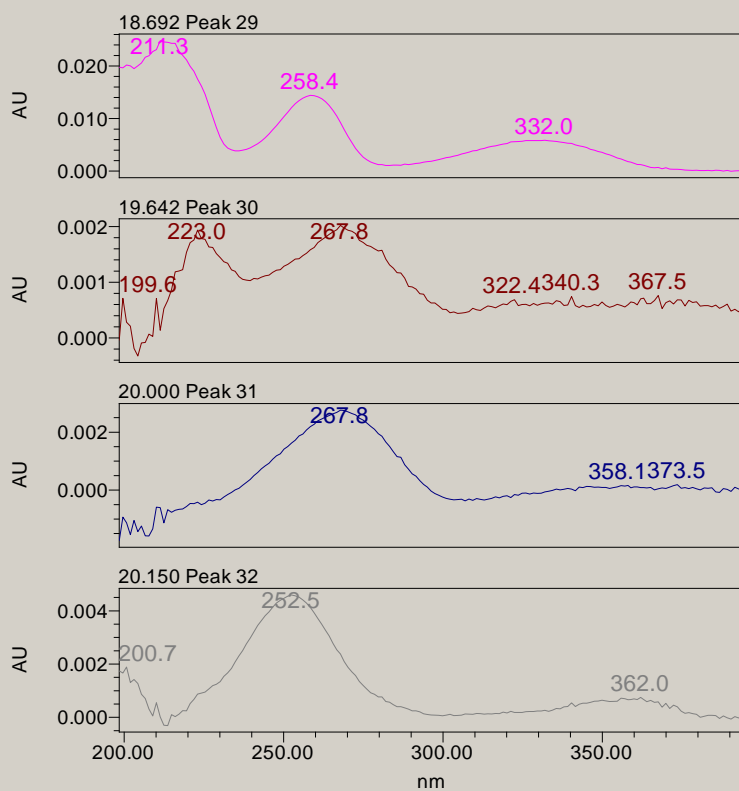
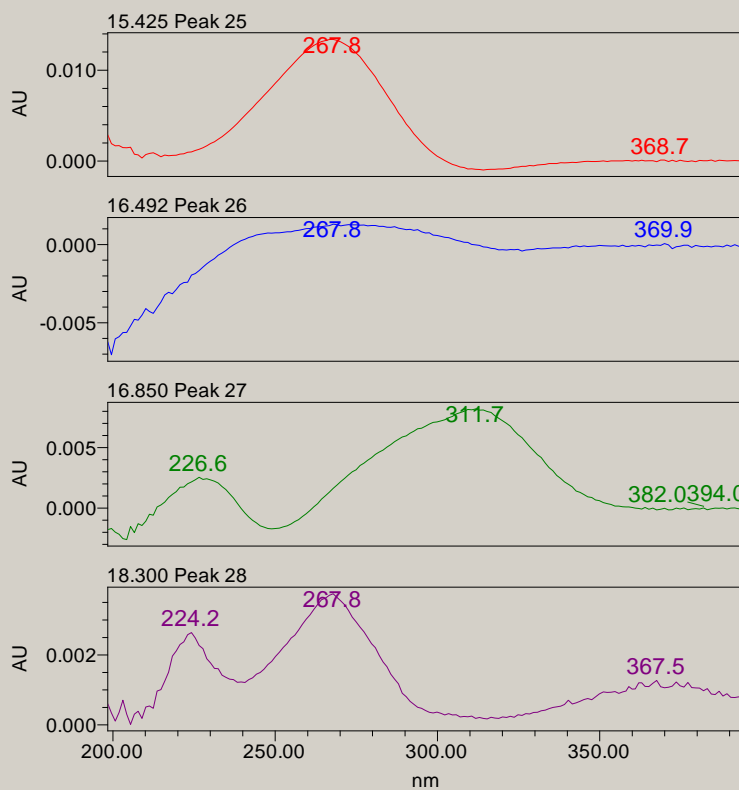
	Retention Time	Purity 1 Angle	Purity1 Threshold	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,044					38093,266	1,260	8810,946
2	2,061	13,019	4,460			51248,337	1,695	8831,505
3	2,317	9,268	4,147			319203,809	10,557	76539,060
4	2,530	17,548	9,756			112999,822	3,737	12270,809
5	2,622					27346,694	0,904	6400,914
6	2,859	8,399	9,243			154364,719	5,106	23566,841
7	3,022	13,684	20,140	Gallic Acid, 3.3min	7,2	111759,662	3,696	21160,943
8	3,585	17,033	90,000			5363,124	0,177	1076,995
9	3,868	16,451	21,146			47907,323	1,585	5034,410
10	4,366	11,954	90,000			38779,460	1,283	5475,262
11	4,637	18,065	90,000			5507,192	0,182	1255,503
12	4,956	29,033	90,000			49324,861	1,631	7030,227
13	5,213	47,204	90,000			10072,030	0,333	1764,939
14	6,711	22,230	90,000			44887,602	1,485	4441,475
15	8,695	19,023	90,000			83761,119	2,770	5782,924
16	10,245	7,045	90,000			21491,442	0,711	2601,727
17	11,577	2,721	27,316	Cumaric Acid peak1 200ng	2,9	45113,281	1,492	5072,920
18	12,102	4,642	39,204	Leid vanilic 40 ppm	3,09	88945,456	2,942	10388,888
19	12,943	12,145	90,000			27860,136	0,921	2739,447
20	13,540	13,889	90,000			7528,522	0,249	1327,905
21	14,011	2,933	18,471	Gallotannin, sumac, 11.5min	3,3	210113,375	6,949	25954,119
22	14,496	28,324	90,000			32040,696	1,060	4526,301

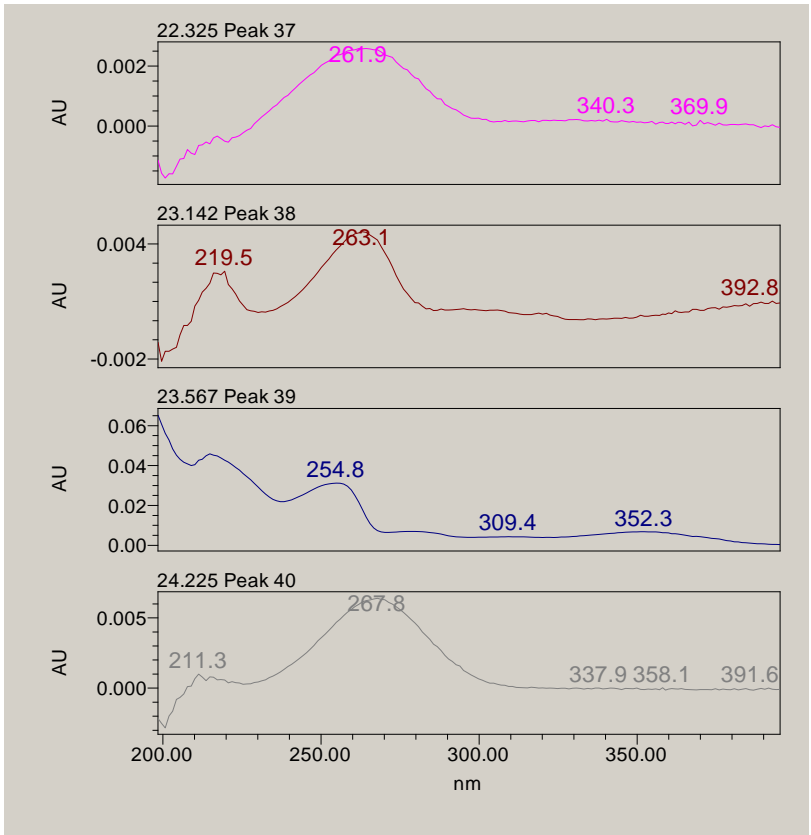
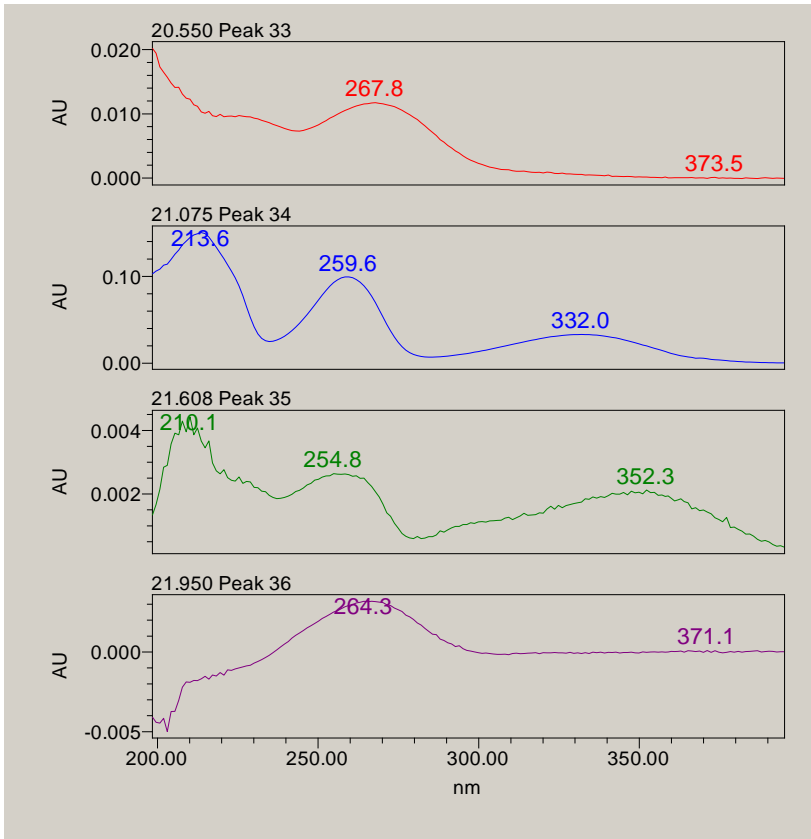
23	14,802	11,64 4	13,392			166683,12 7	5,513	21437,27 3
24	14,958	7,245	26,234			65910,330	2,180	8996,448
25	15,428	24,00 8	73,455			95130,184	3,146	12963,63 8
26	16,489	19,32 7	90,000			7329,016	0,242	1231,133
27	16,847	7,309	47,501			14900,911	0,493	2398,531
28	18,297	10,39 9	90,000			27618,466	0,913	3469,300
29	18,692	7,690	76,173			46636,150	1,542	5720,529
30	19,639	29,73 4	90,000			20293,898	0,671	1921,004
31	20,001	20,84 2	90,000			16825,230	0,556	2659,953
32	20,151	14,96 3	90,000			10957,259	0,362	1743,950
33	20,551	18,93 2	63,640			92669,110	3,065	11453,93 0
34	21,075	3,987	7,522			456706,99 2	15,10 5	46907,42 7
35	21,610	4,124	90,000			8222,757	0,272	1475,972
36	21,947	16,79 4	90,000			15544,417	0,514	3001,796
37	22,326	25,00 9	90,000			17729,804	0,586	2342,078
38	23,143	25,09 5	90,000			30929,816	1,023	3275,669
39	23,566	5,326	19,851			52610,765	1,740	6482,003
40	24,222	28,70 6	90,000			53354,900	1,765	6156,089
41	24,755	16,90 8	29,660			62957,855	2,082	7634,069
42	25,022	13,31 7	90,000			25101,662	0,830	2638,595
43	25,783	3,887	66,535			26618,800	0,880	3766,943
44	27,579	5,417	35,248			88394,727	2,924	12841,84 3
45	28,610	2,416	33,338			86646,609	2,866	12810,08 9

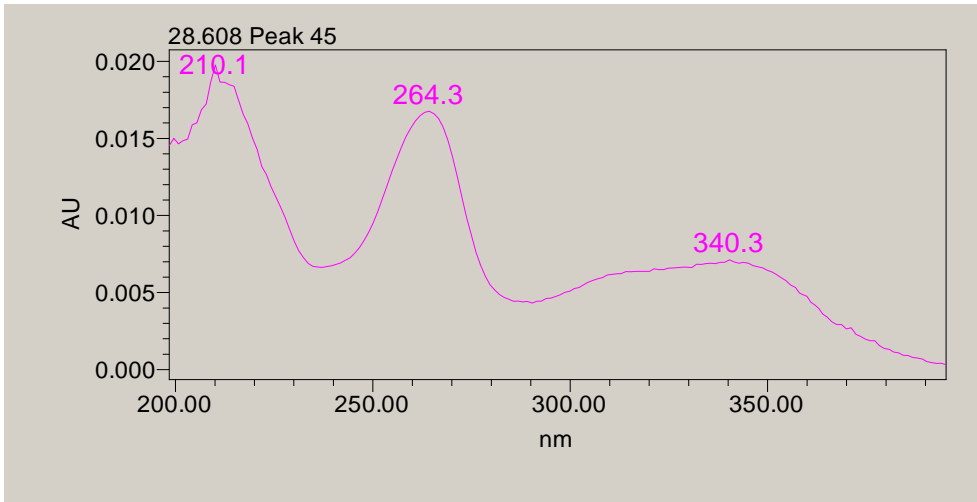
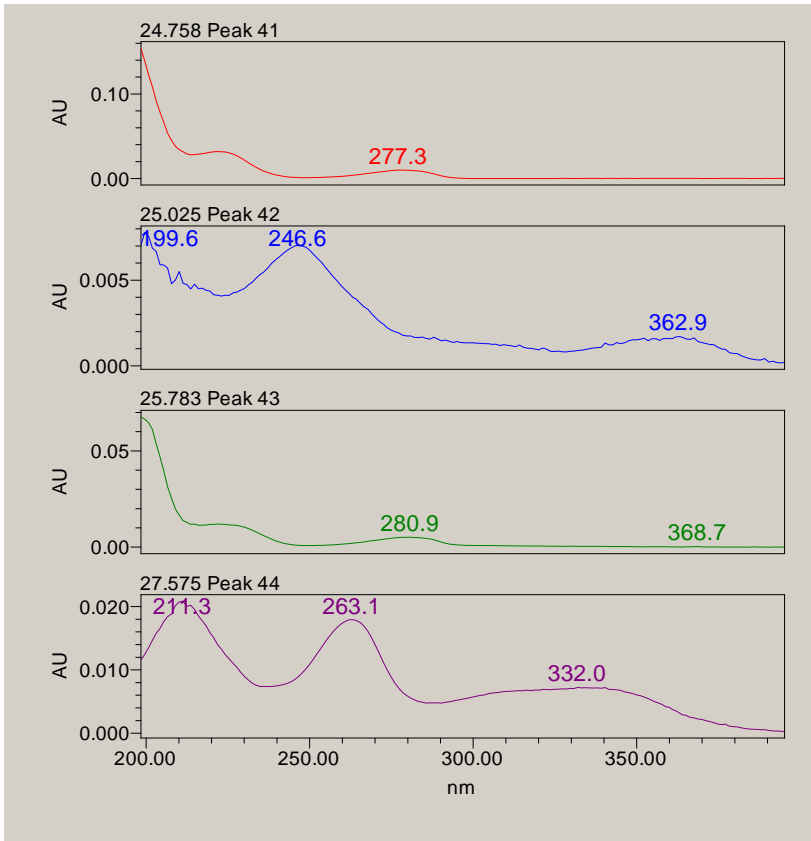










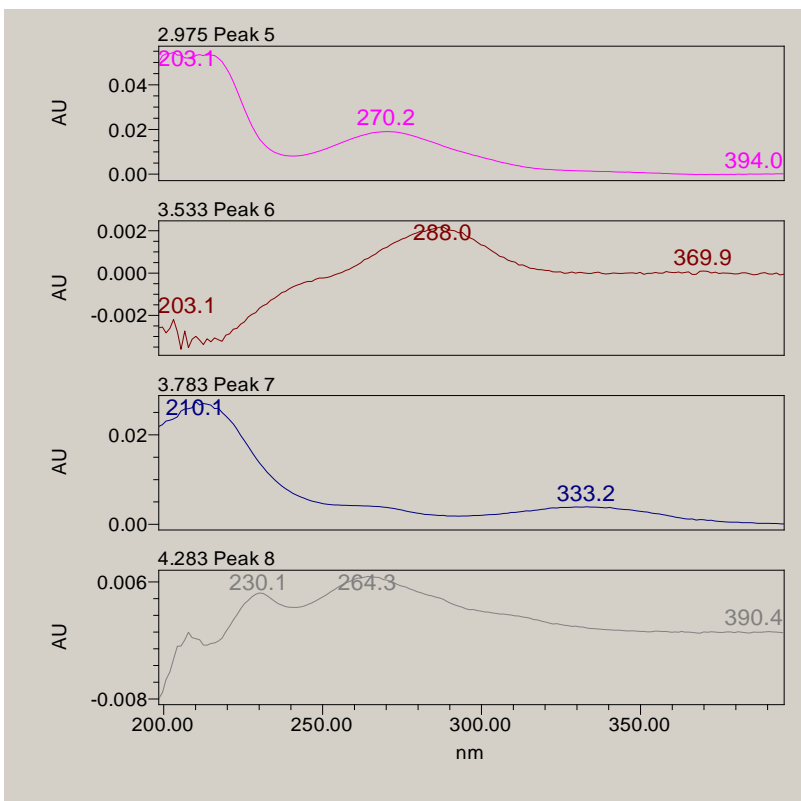
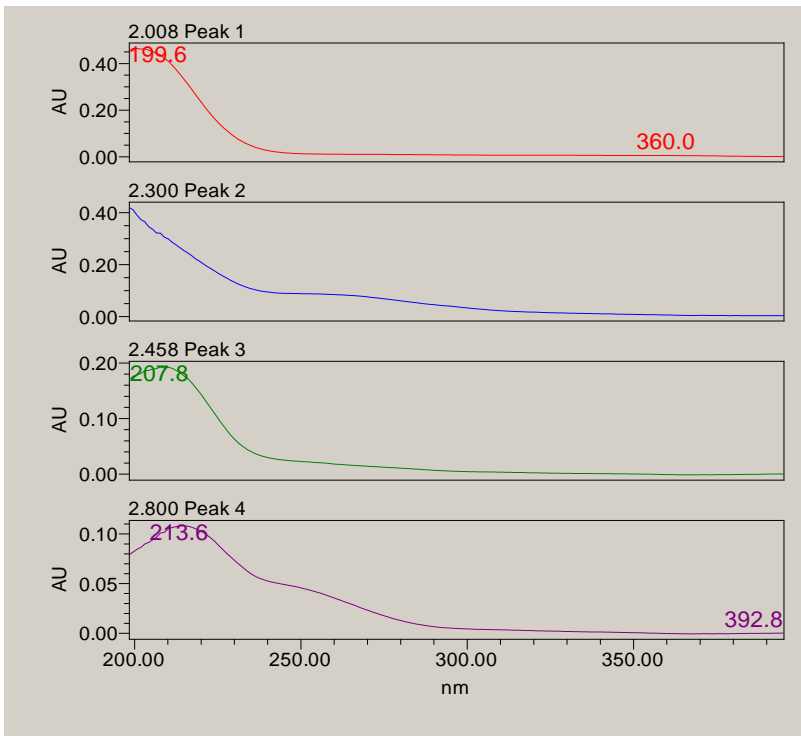


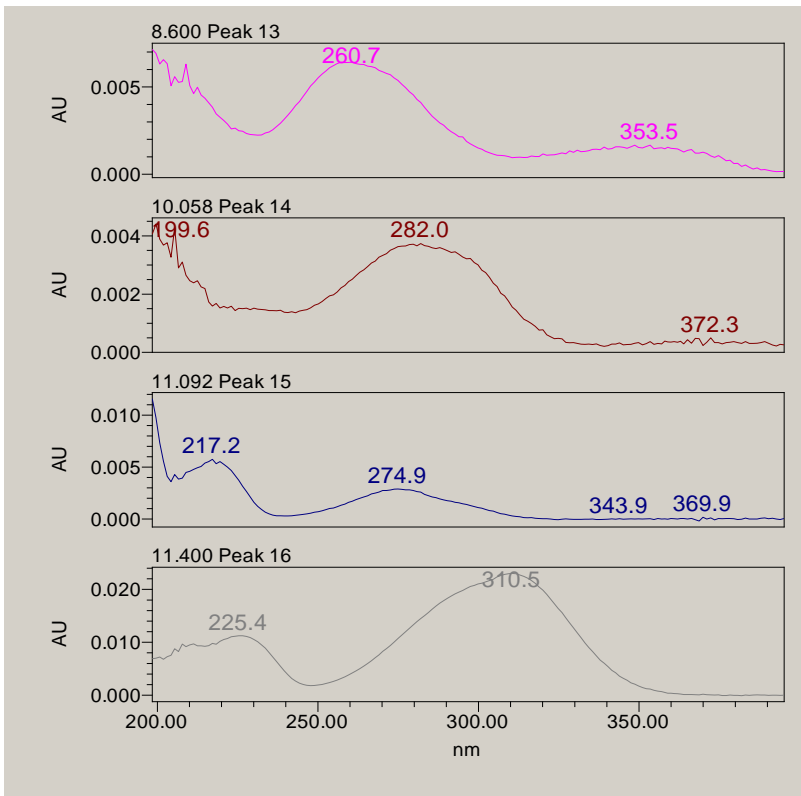
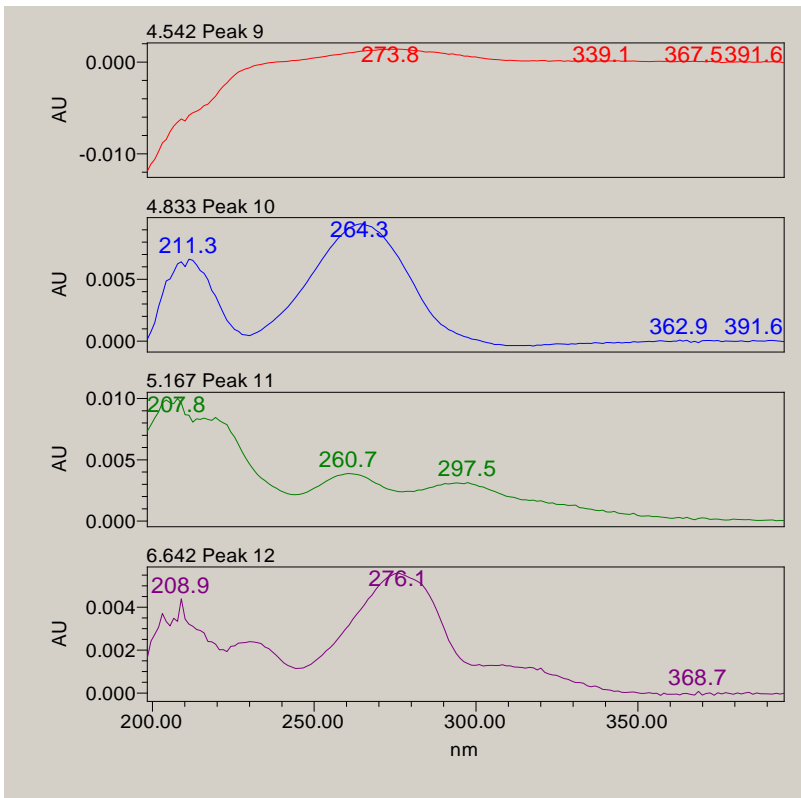


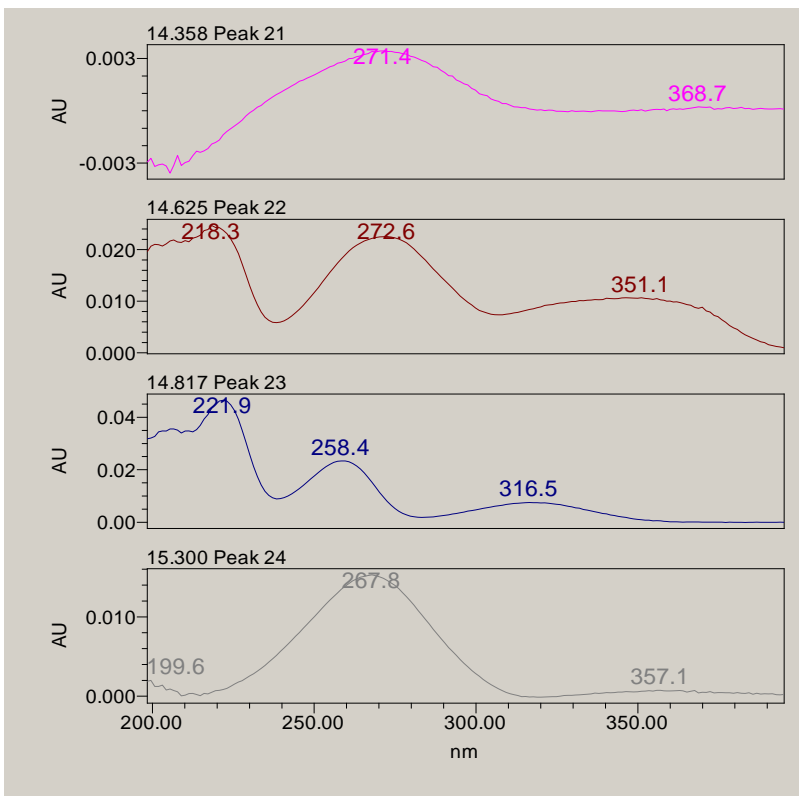
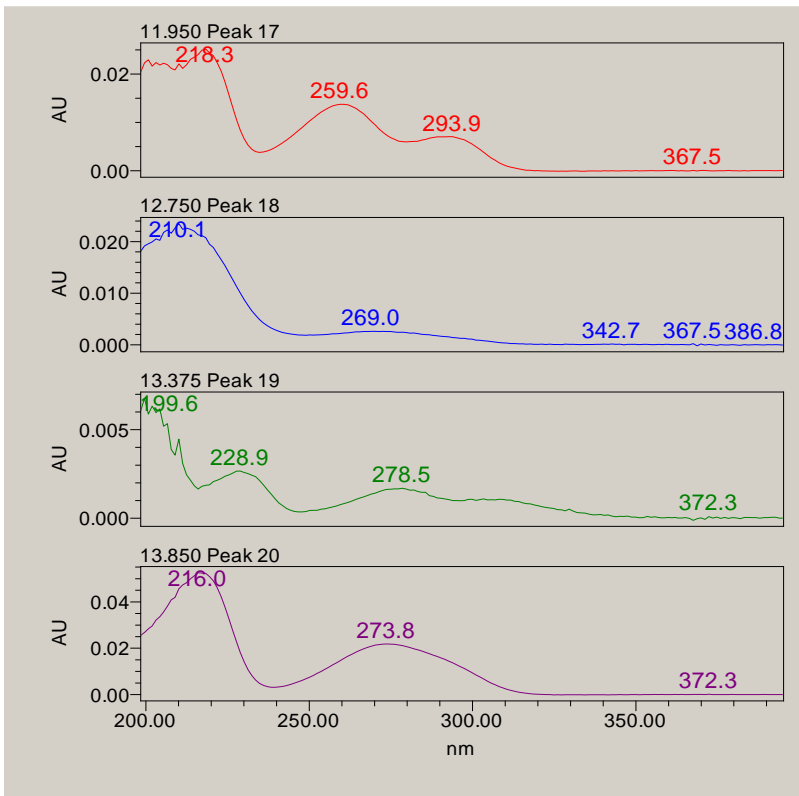
N1 250 µm

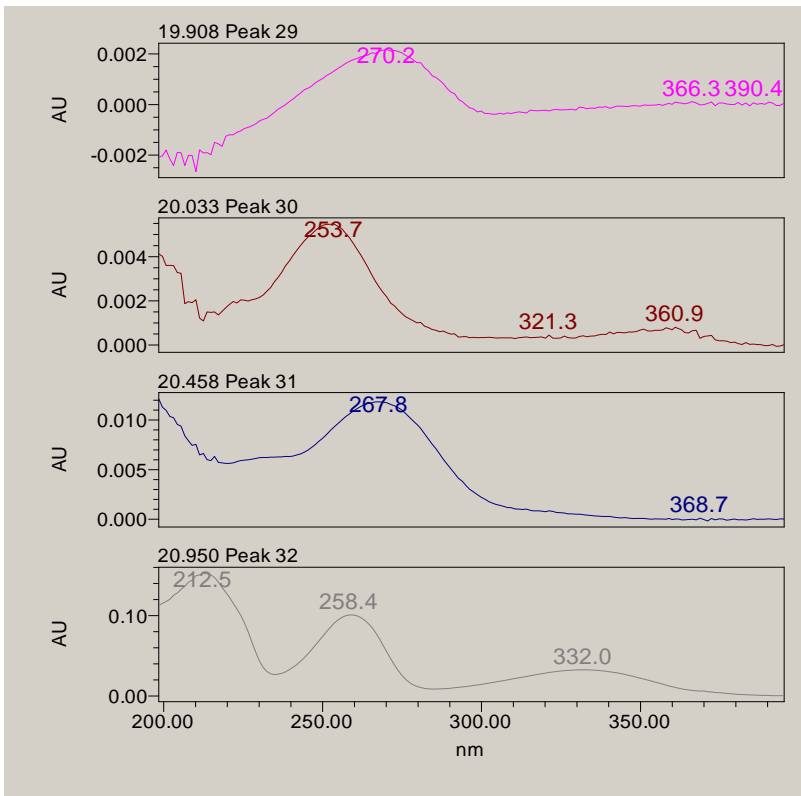
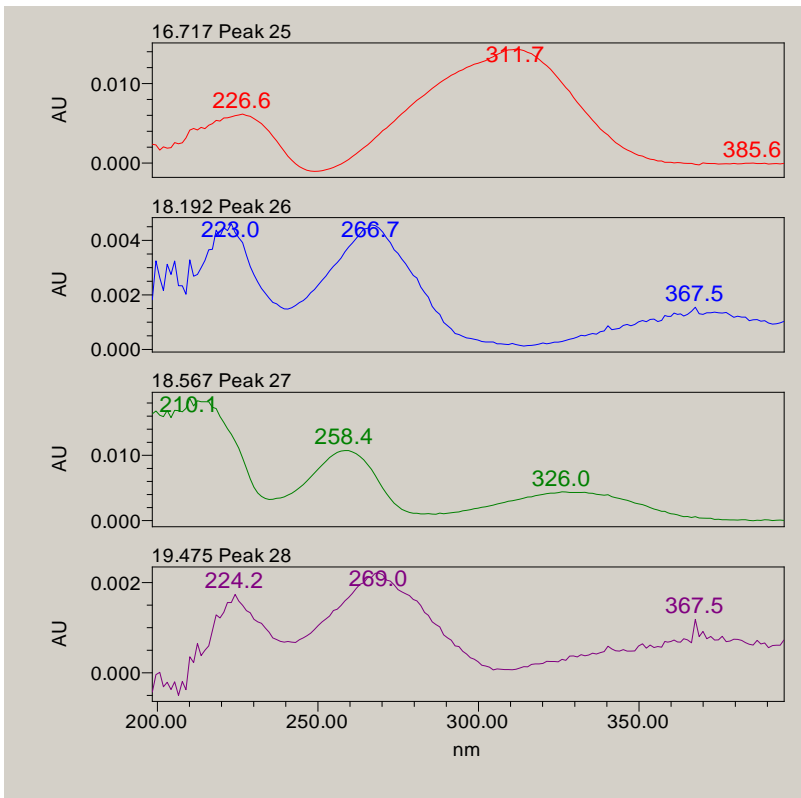
	Retention Time	Purity 1 Angle	Purity1 Threshold	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,008	11,378	7,654			100551,393	2,944	10390,424
2	2,299	10,676	7,601			324541,723	9,504	73960,132
3	2,459	10,913	13,808	Tanino catequónico de Mimosa 33.0-33.5min aprox.	9,406	136924,398	4,010	13848,400
4	2,801	8,568	20,495			143795,740	4,211	21903,286
5	2,979	17,783	42,997	Gallotannin, sumac, 10.4min	9,771	93704,426	2,744	19118,820
6	3,537	15,522	90,000			6146,981	0,180	1321,102
7	3,782	23,485	77,159			40104,768	1,174	3680,272
8	4,285	25,166	90,000			46784,134	1,370	6084,613
9	4,539	17,010	90,000			8382,210	0,245	1368,699
10	4,836	46,307	90,000			78152,264	2,289	8526,363
11	5,165	15,702	90,000			23502,438	0,688	2824,688
12	6,641	8,100	90,000			39385,679	1,153	5181,352
13	8,604	21,563	90,000			81785,107	2,395	5806,749
14	10,061	12,621	90,000			28842,711	0,845	3380,470
15	11,094	18,936	90,000			25461,648	0,746	2761,539
16	11,396	1,830	40,667	Cumaric Acid peak1 200ng	2,627	77072,464	2,257	8696,706
17	11,949	9,532	90,000	Acid vanilic 40 ppm	1,331	85033,445	2,490	8828,500
18	12,749	5,751	90,000			22165,635	0,649	2579,469
19	13,374	9,150	90,000			8384,351	0,246	1481,418
20	13,852	2,334	50,077	Tanino glicólico de la Tara 3.9min aprox.	3,697	175082,833	5,127	21512,962
21	14,357	37,272	90,000			28167,821	0,825	3437,070
22	14,627	11,185	28,582			173990,363	5,095	22492,736
23	14,814	6,020	46,032			79861,536	2,339	10082,131
24	15,301	12,936	90,000			106406,544	3,116	14903,621
25	16,713	3,392	65,364	Cumaric Acid peak1 200ng	6,767	27049,995	0,792	4340,730
26	18,191	13,657	90,000			28028,439	0,821	4141,068

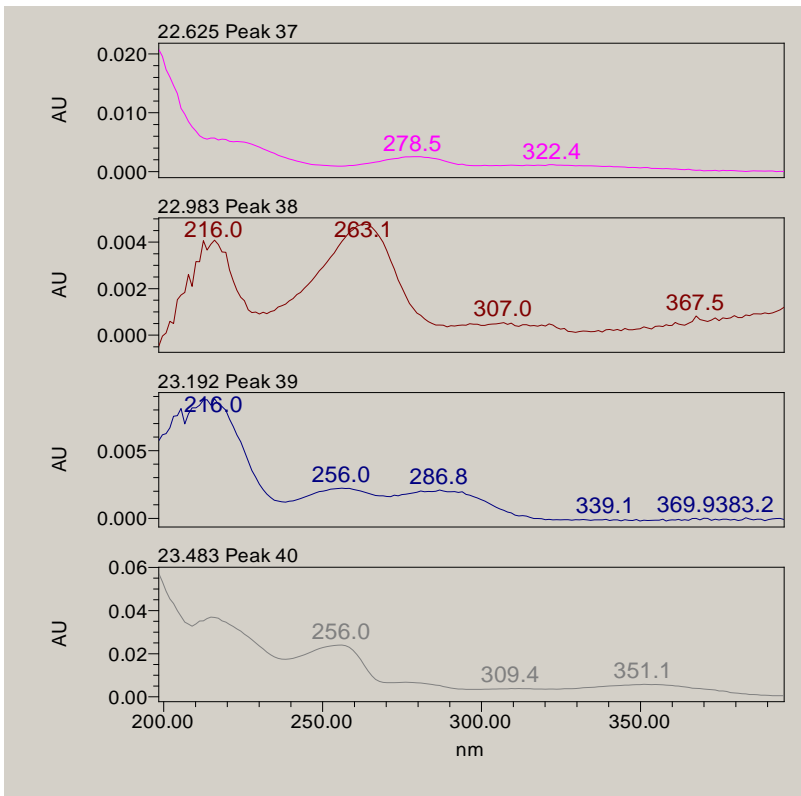
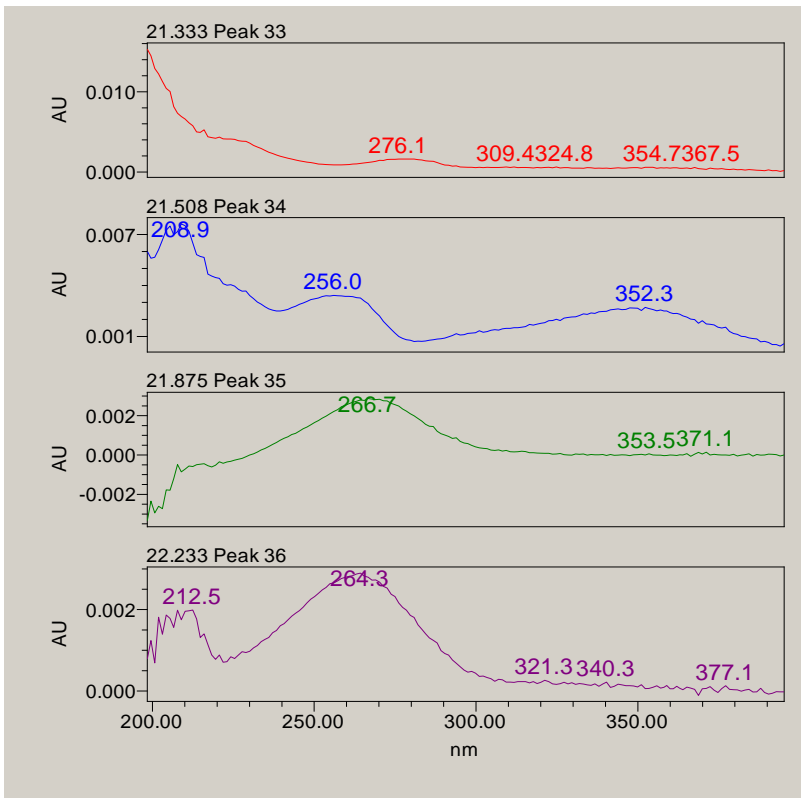
27	18,568	11,69 9	90,000			38685,475	1,133	4337,238
28	19,477	31,09 1	90,000			16092,422	0,471	2084,391
29	19,909	27,92 4	90,000			12671,969	0,371	2125,874
30	20,031	11,68 8	90,000			11474,588	0,336	1961,190
31	20,459	26,70 7	90,000			97010,456	2,841	11614,67 4
32	20,946	2,915	14,796			459721,97 6	13,46 2	48641,98 2
33	21,333	9,640	90,000			9159,511	0,268	1443,731
34	21,505	5,612	90,000			13007,093	0,381	1966,380
35	21,875	15,09 9	90,000			14412,165	0,422	2779,740
36	22,236	20,87 8	90,000			19811,431	0,580	2600,739
37	22,628	14,69 1	90,000			19340,668	0,566	2084,329
38	22,987	7,566	90,000			21277,234	0,623	3321,840
39	23,189	9,733	90,000			8595,486	0,252	1611,071
40	23,484	11,70 8	49,134			68163,041	1,996	6556,397
41	24,135	21,07 1	90,000			41770,097	1,223	6057,624
42	24,673	12,67 8	40,811			77849,043	2,280	9520,826
43	24,924	14,65 5	90,000			35025,448	1,026	3440,199
44	25,689	4,617	90,000	Tanino catequónico restos poda 5%Meta_4, 21.27min, 041219	9,164	32835,607	0,962	4292,478
45	26,742	4,148	90,000	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 16.74min, 121219	7,379	7766,502	0,227	1240,957
46	27,411	3,518	35,701			208700,23 3	6,111	29563,65 1
47	28,423	1,551	31,816			212233,27 4	6,215	29478,53 3

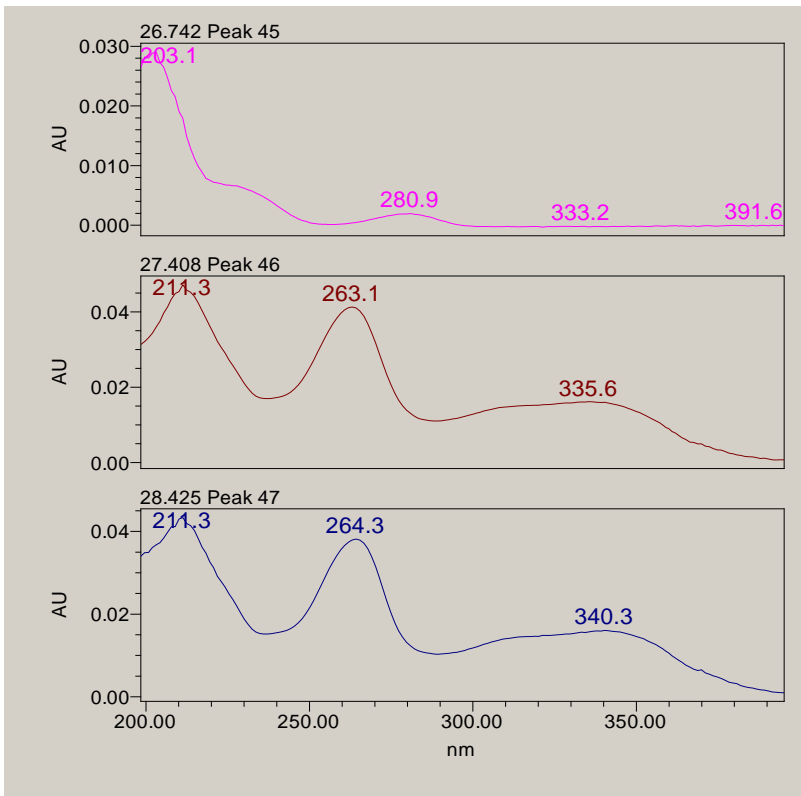
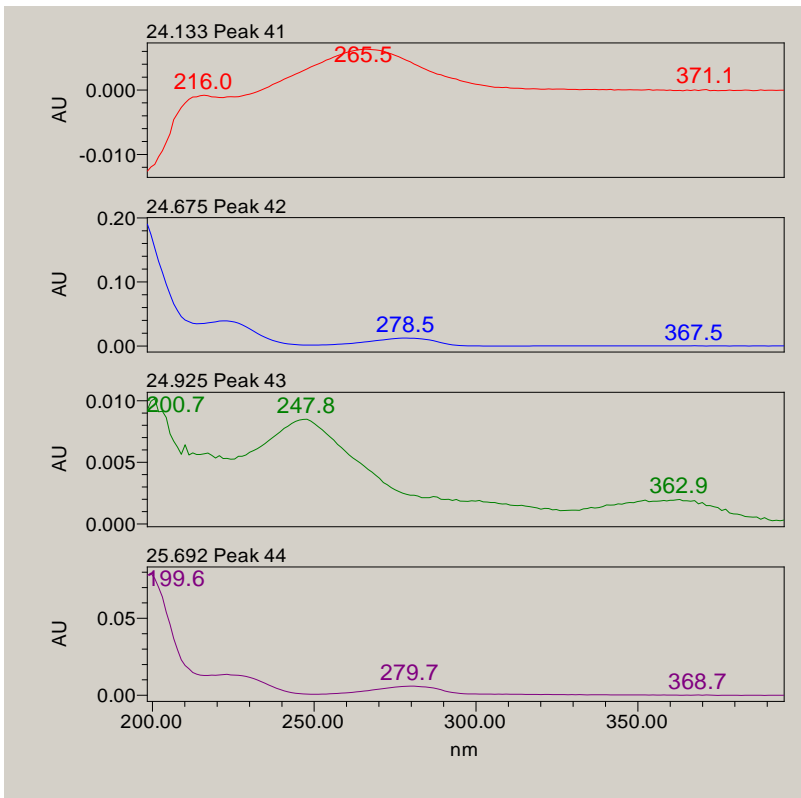










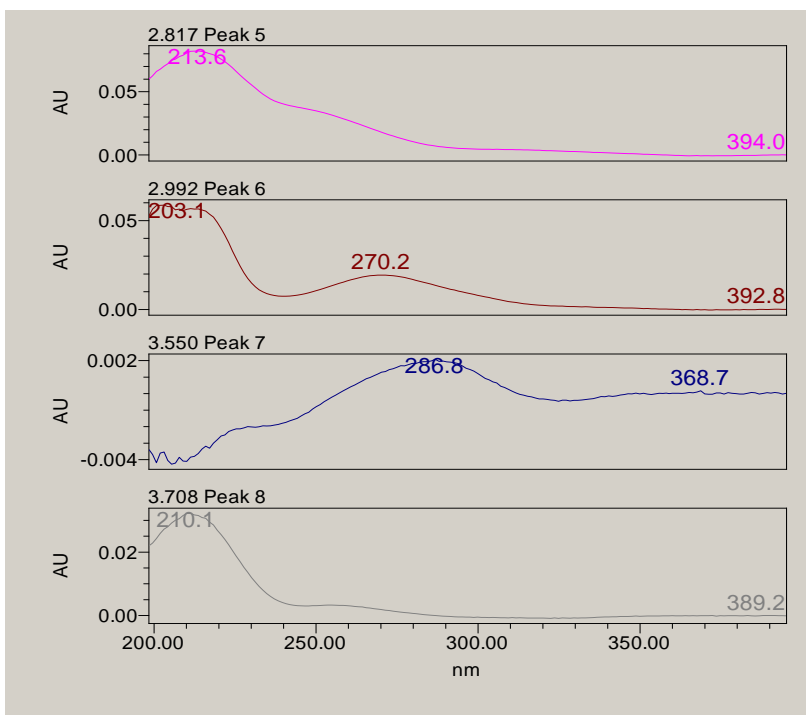
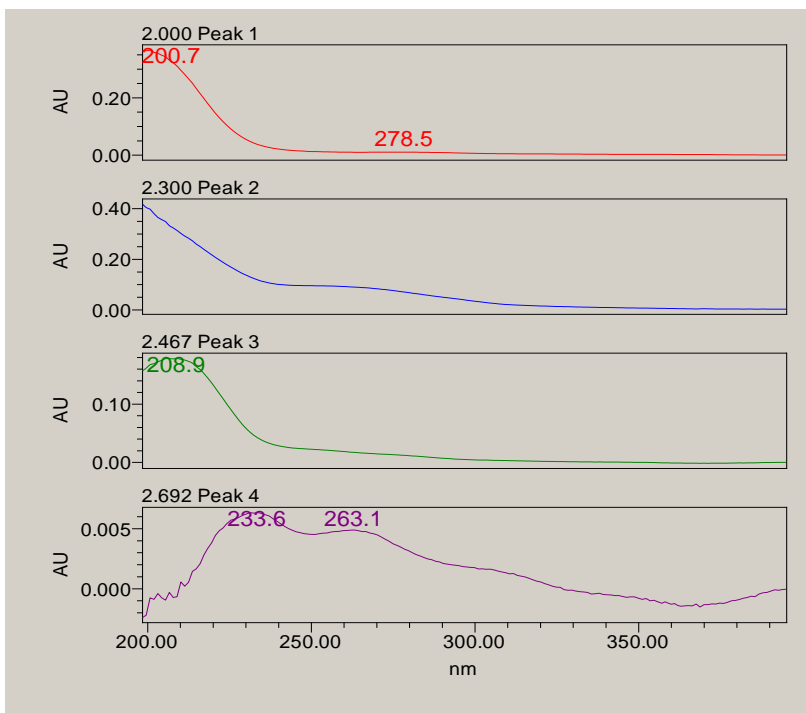


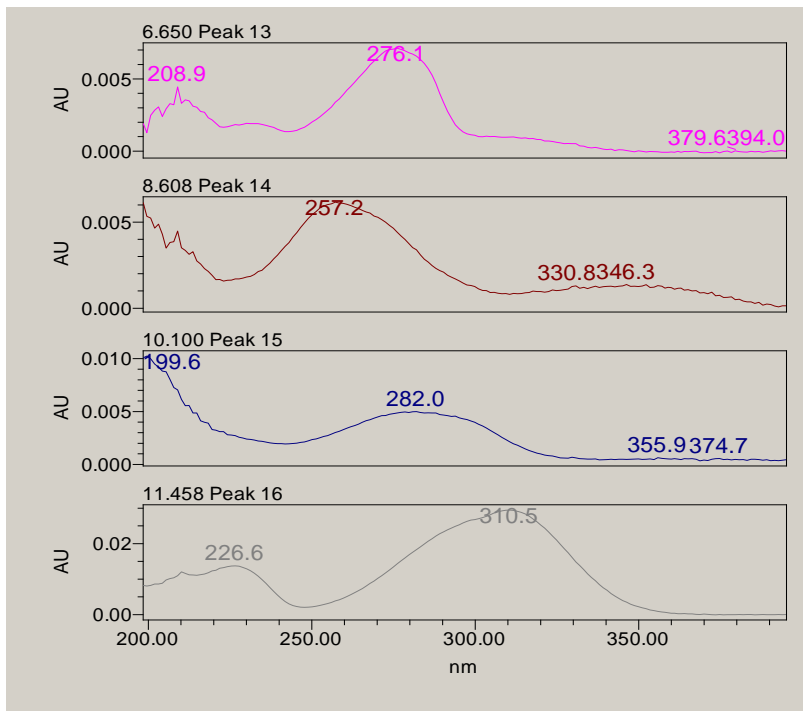
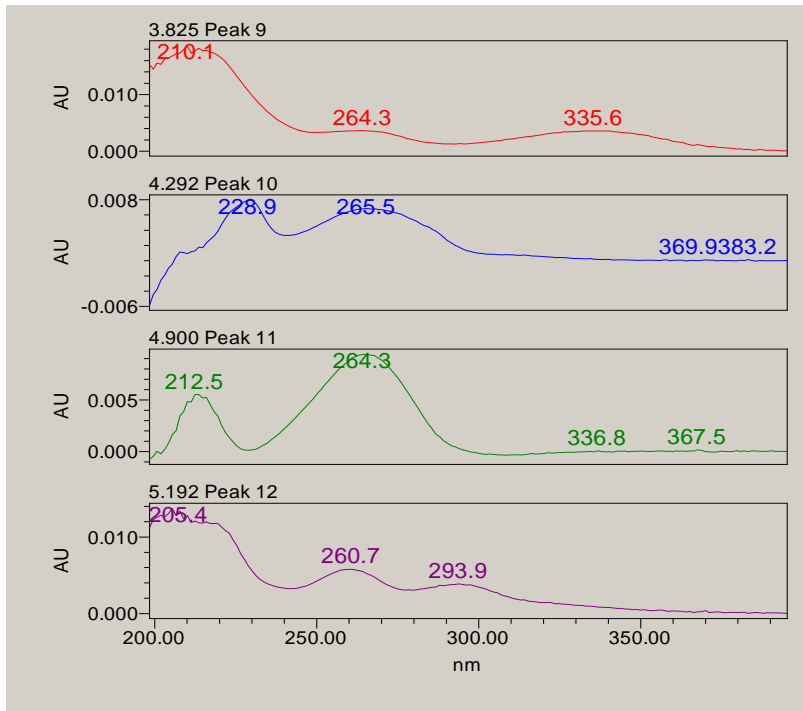


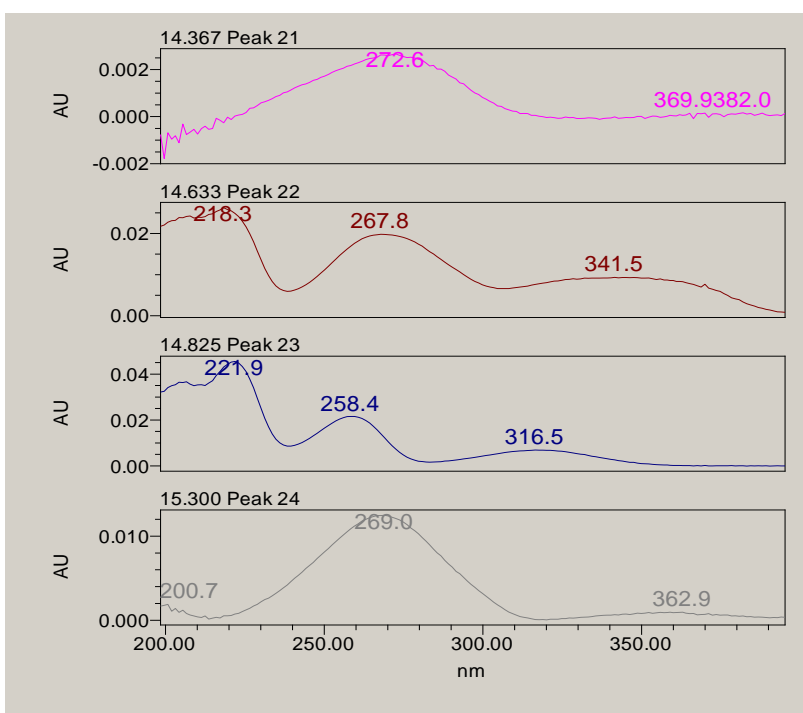
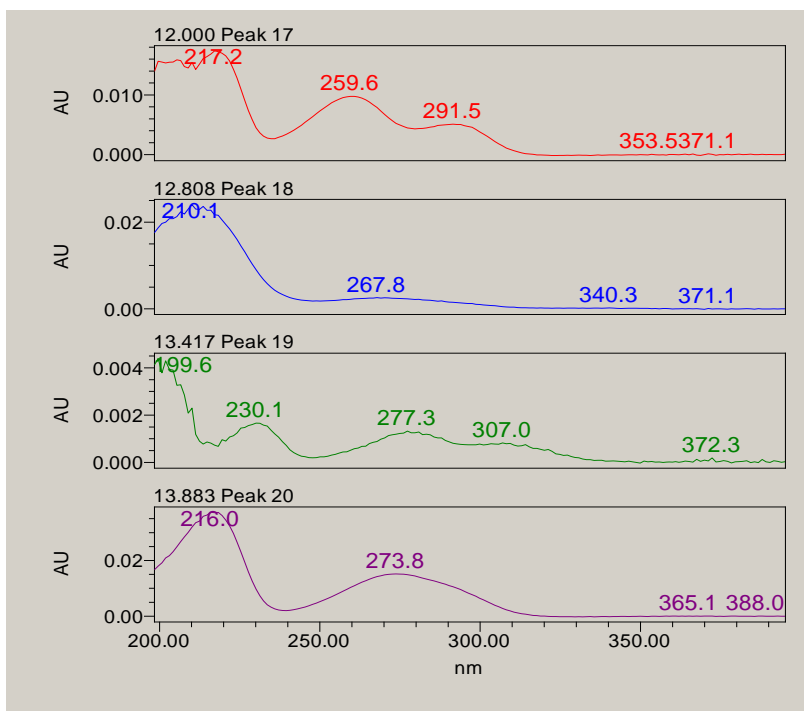
N1 100 µm

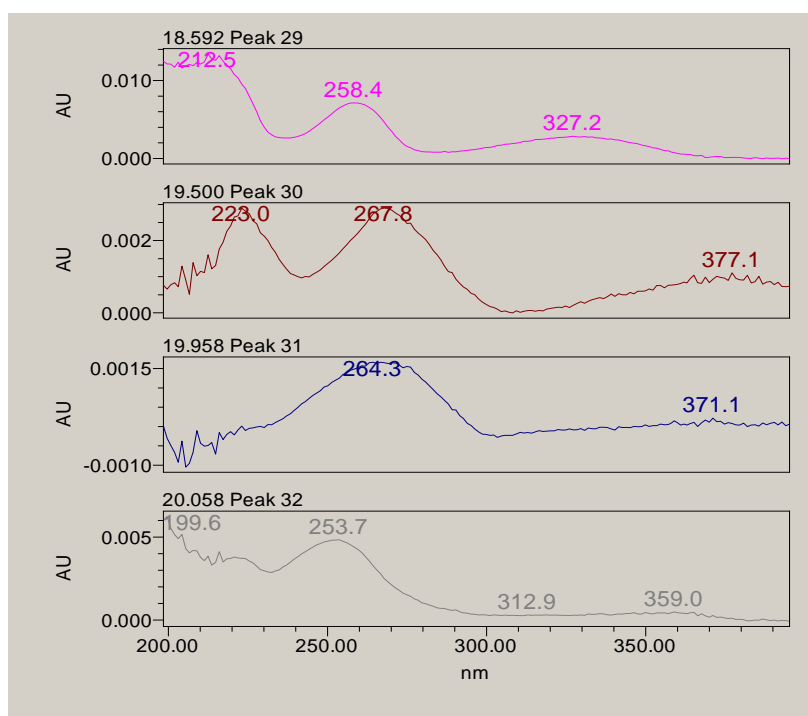
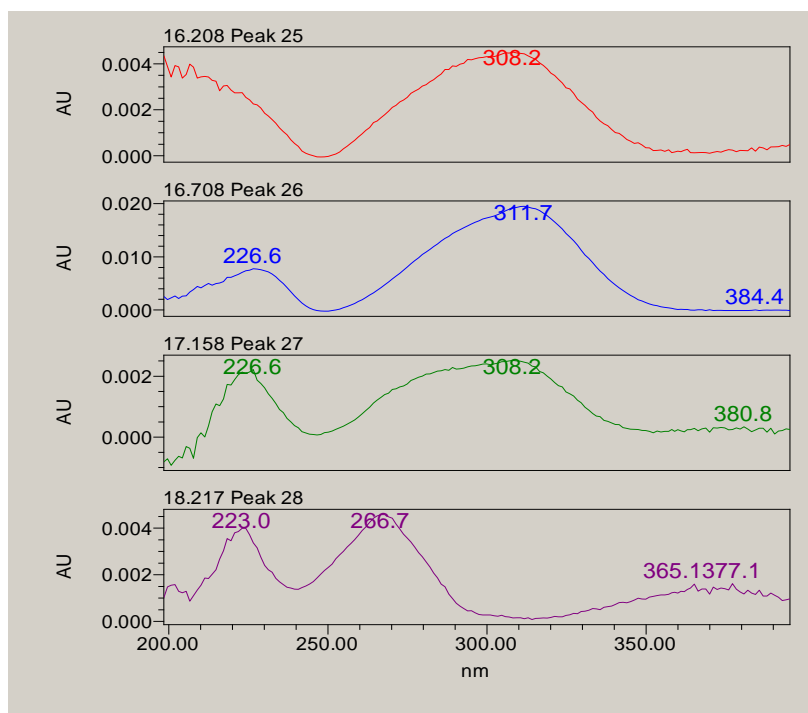
	Retention Time	Purity 1 Angle	Purity1 Threshold	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	1,998	15,531	13,165			89228,374	2,510	10321,819
2	2,299	13,098	10,279			379532,544	10,678	81395,696
3	2,465	11,089	20,380			133715,318	3,762	14481,693
4	2,689					14654,288	0,412	4359,153
5	2,815	8,581	35,690			106610,241	2,999	17165,550
6	2,993	20,886	71,726			96653,924	2,719	19318,572
7	3,549	11,301	90,000			7081,237	0,199	1331,029
8	3,708					7363,943	0,207	1709,869
9	3,821	26,768	90,000			27914,198	0,785	3292,649
10	4,290	16,903	90,000			55030,100	1,548	6633,227
11	4,904	35,957	90,000			65705,036	1,849	8586,084
12	5,191	16,161	90,000	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	9,370	28956,260	0,815	3890,233
13	6,654	6,769	90,000			51209,603	1,441	6685,375
14	8,611	23,133	90,000			84129,691	2,367	5180,823
15	10,102	6,150	90,000			39895,003	1,122	4582,797
16	11,455	1,269	46,236	Cumaric Acid peak1 200ng	2,805	92218,430	2,594	10823,761
17	11,998	16,857	90,000	Acid vanilic 40 ppm	2,411	63302,441	1,781	6318,806
18	12,807	6,150	90,000			21992,860	0,619	2521,809
19	13,415	13,955	90,000			5848,418	0,165	1110,021
20	13,882	3,615	90,000	Tanino glicólico de la Tara 3.9min aprox.	4,131	119961,559	3,375	14974,771
21	14,368	42,507	90,000			20977,054	0,590	2622,825
22	14,630	16,067	52,196			159204,069	4,479	19667,705
23	14,826	5,675	90,000			71820,091	2,021	9182,946
24	15,299	11,164	90,000			84562,611	2,379	12273,572
25	16,207	43,601	90,000			30152,976	0,848	2173,916
26	16,709	2,472	80,346	Cumaric Acid peak1 200ng	5,988	40165,879	1,130	6240,275
27	17,160	11,612	90,000			8744,986	0,246	1582,352

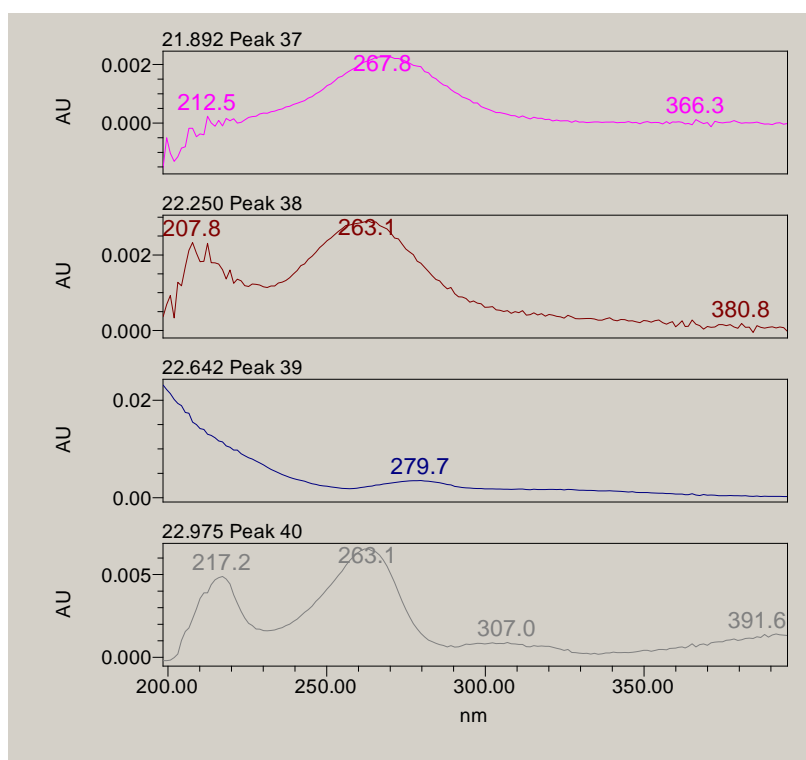
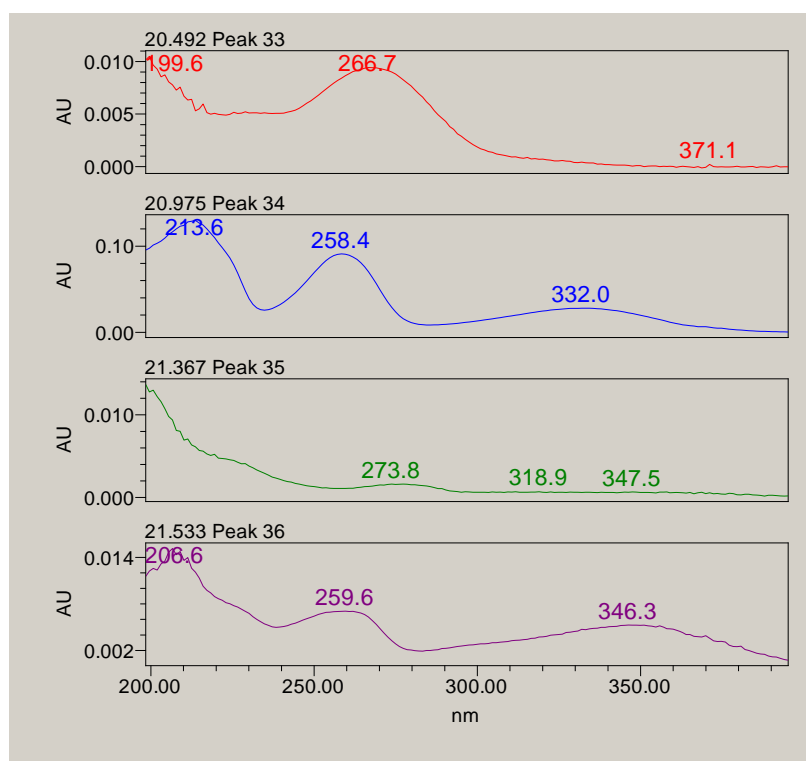
28	18,214	8,003	90,000			27720,350	0,780	4245,596
29	18,595	15,640	90,000			27798,880	0,782	2994,490
30	19,501	21,443	90,000			19229,130	0,541	2778,881
31	19,956	33,447	90,000			8402,923	0,236	1643,002
32	20,058	13,538	90,000			13214,323	0,372	1973,755
33	20,494	28,483	90,000			78787,919	2,217	9260,649
34	20,973	3,115	24,356			405908,479	11,420	43674,014
35	21,365	8,669	90,000			9668,056	0,272	1511,117
36	21,530	3,967	90,000			29748,788	0,837	4399,199
37	21,896	19,464	90,000			11614,482	0,327	2229,657
38	22,252	20,671	90,000			21596,918	0,608	2481,533
39	22,638	12,452	90,000	Oak component, 33.4min	7,582	44898,159	1,263	3085,204
40	22,978	8,608	90,000			33949,255	0,955	4645,481
41	23,174	18,308	90,000			9775,183	0,275	1720,116
42	23,334	13,162	90,000			16404,950	0,462	2721,900
43	23,475	11,192	90,000			52907,724	1,488	6193,229
44	24,129	36,824	90,000			56090,437	1,578	5643,754
45	24,682	27,109	63,994			97484,075	2,743	9196,193
46	24,932	14,301	90,000			36649,313	1,031	3438,013
47	25,708	4,259	90,000	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 19.29min, 101219	8,992	22904,372	0,644	3519,517
48	27,422	3,665	34,939			309376,190	8,704	42897,970
49	28,425	0,980	31,324			313703,842	8,826	42900,904

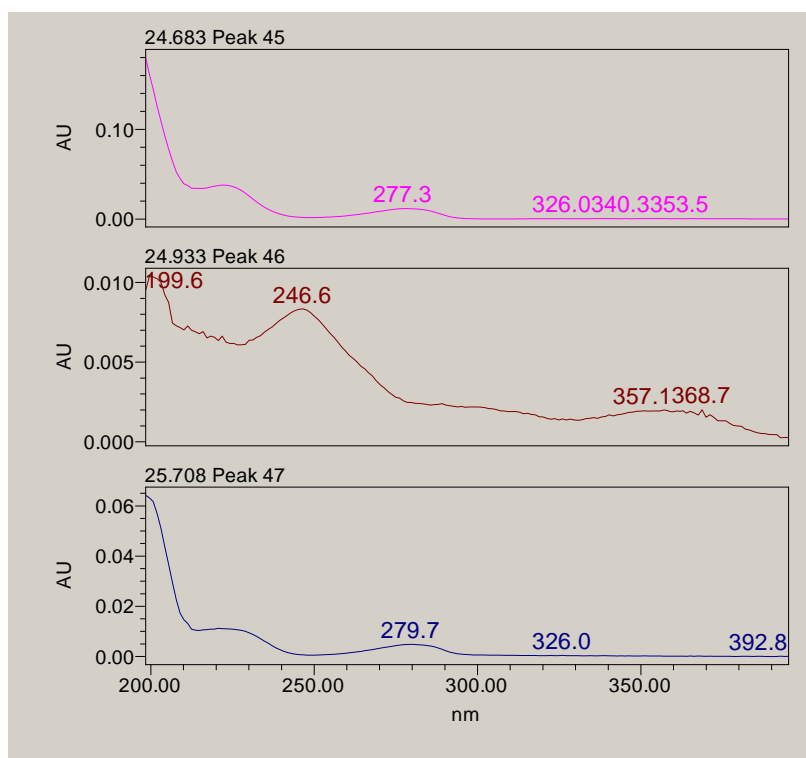
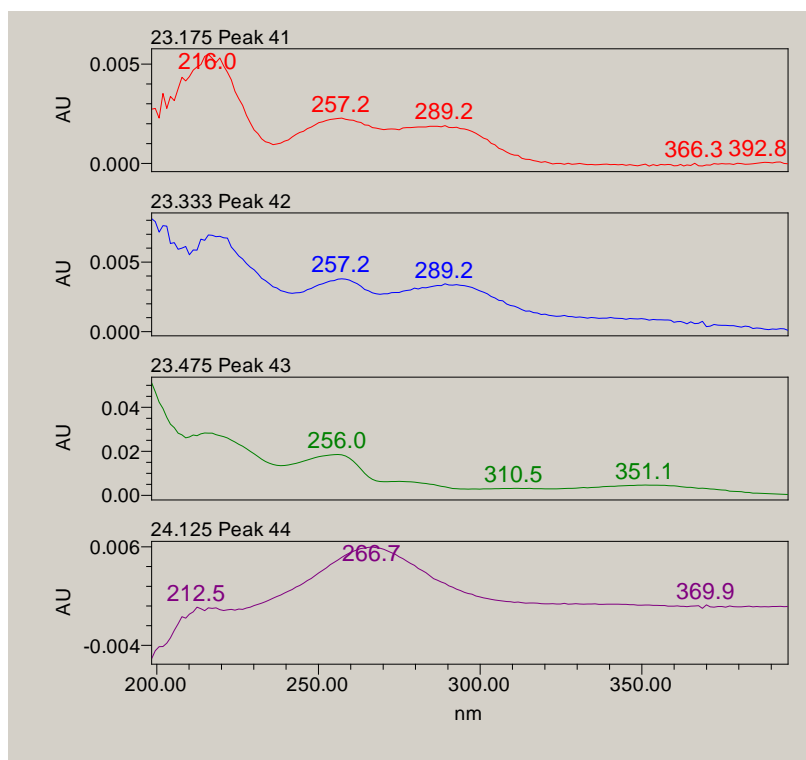




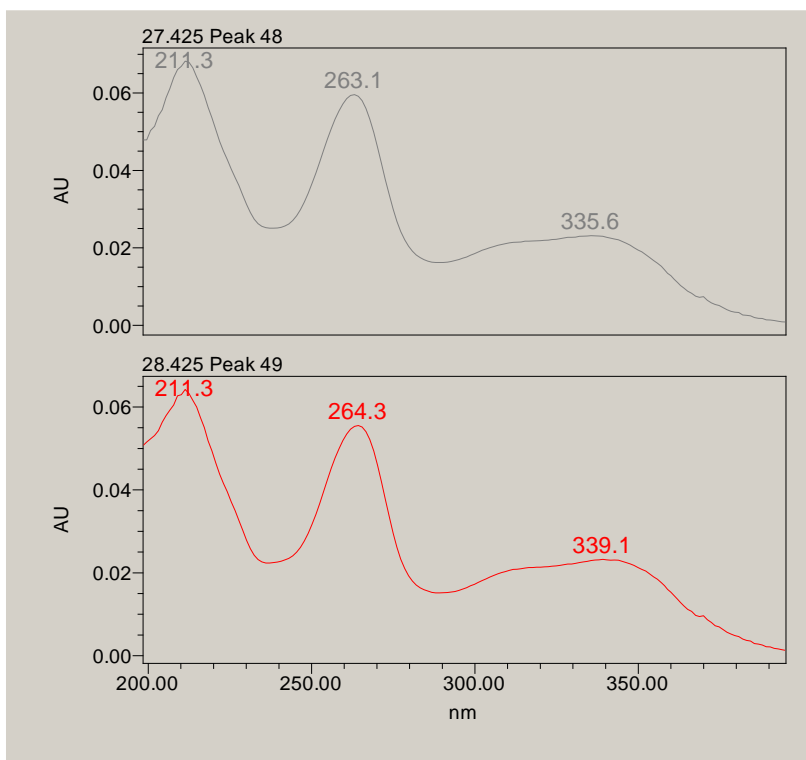








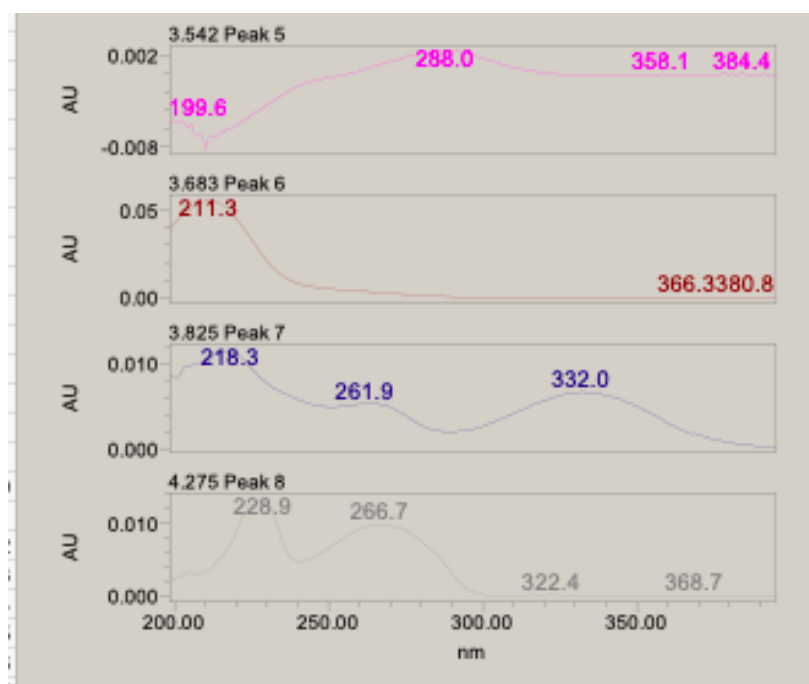
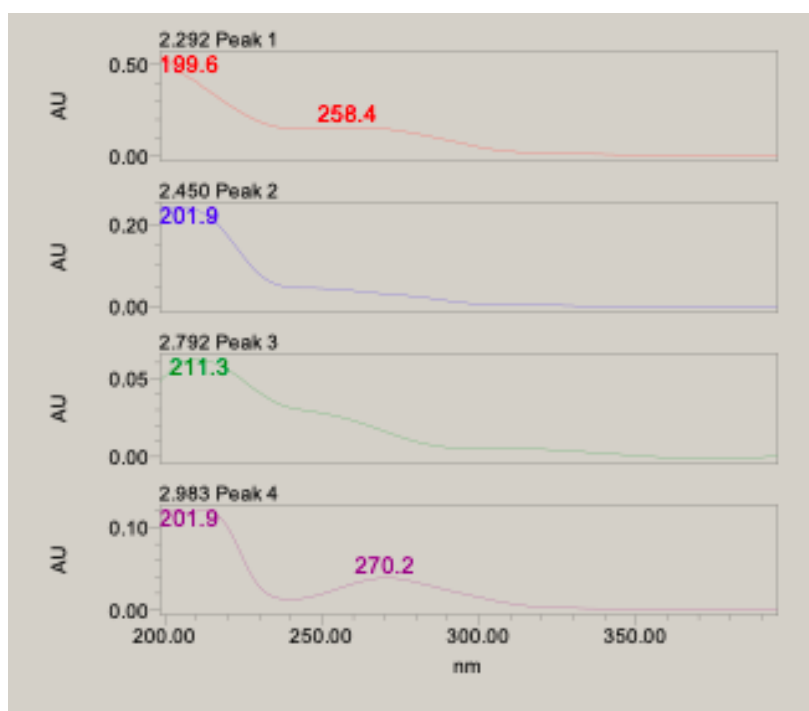


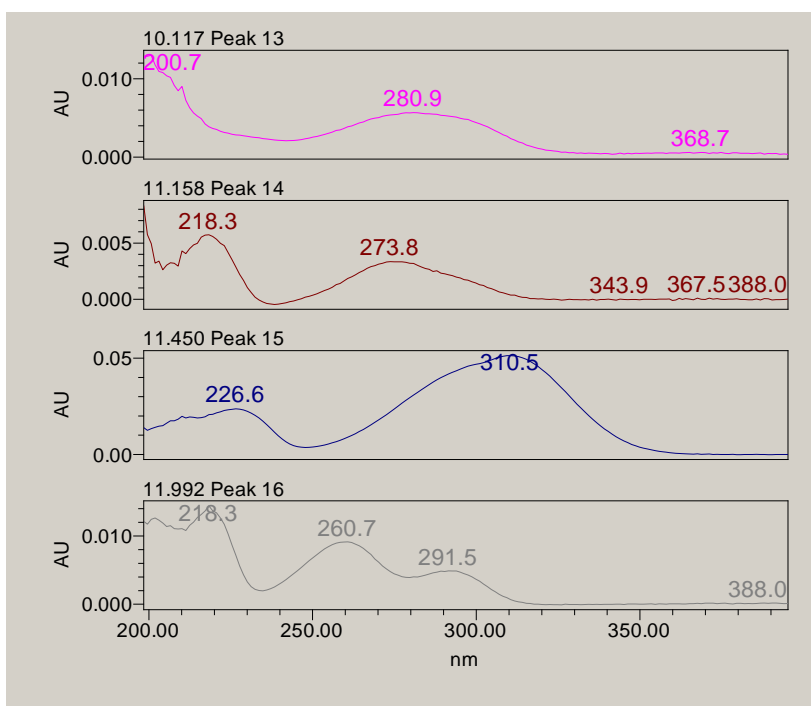
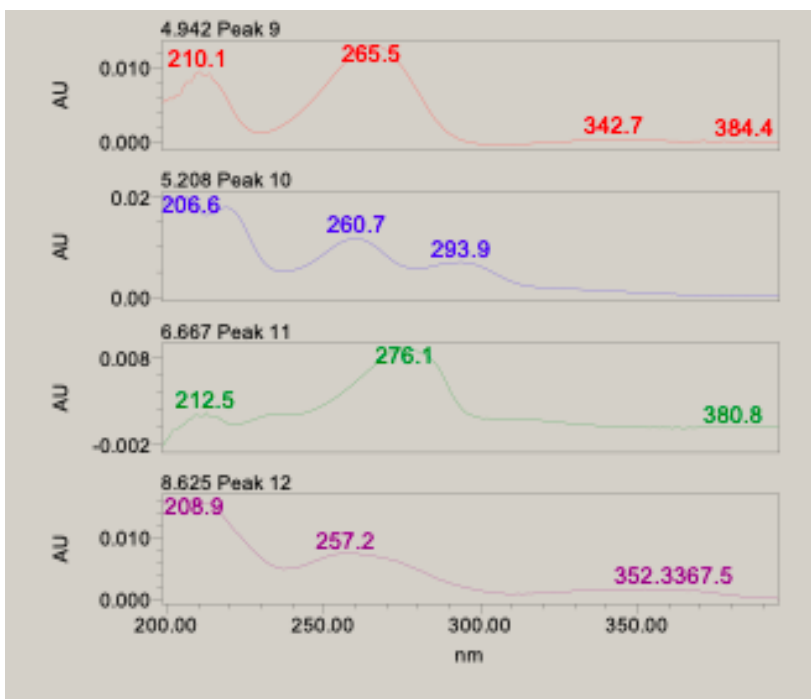


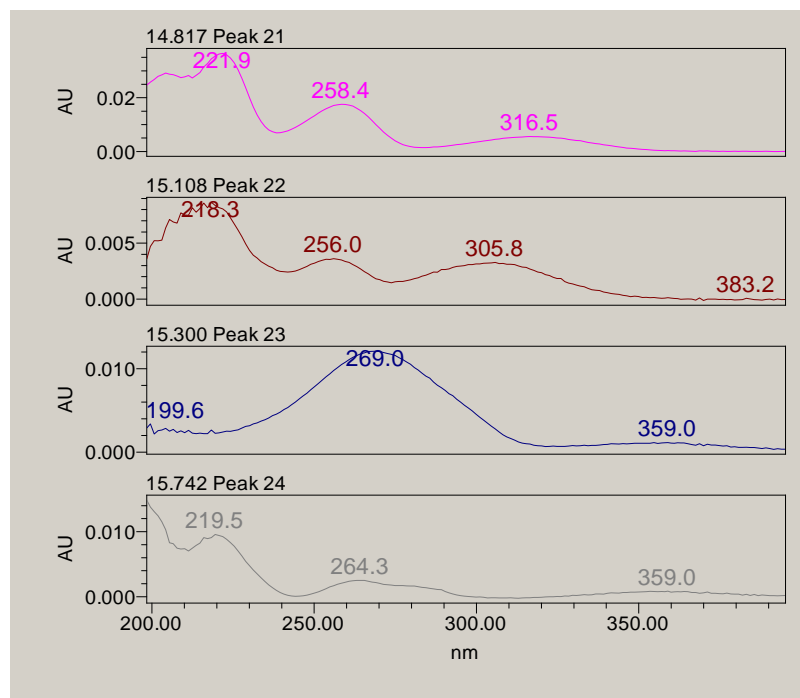
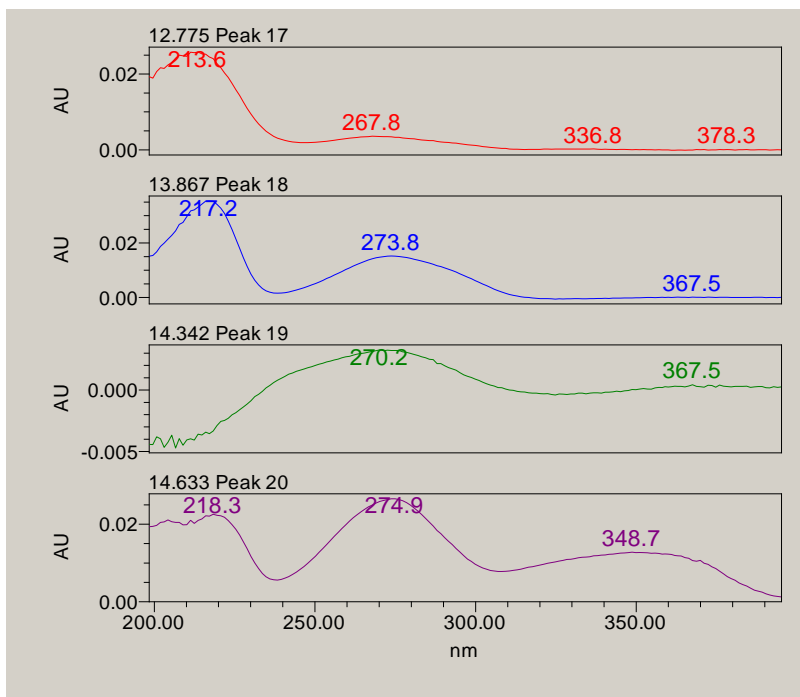
N1 50 µm

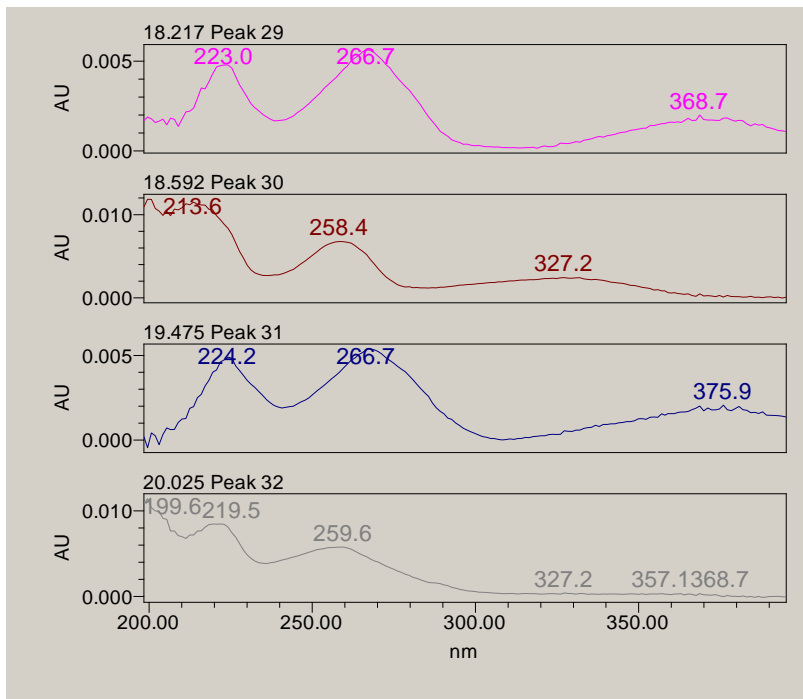
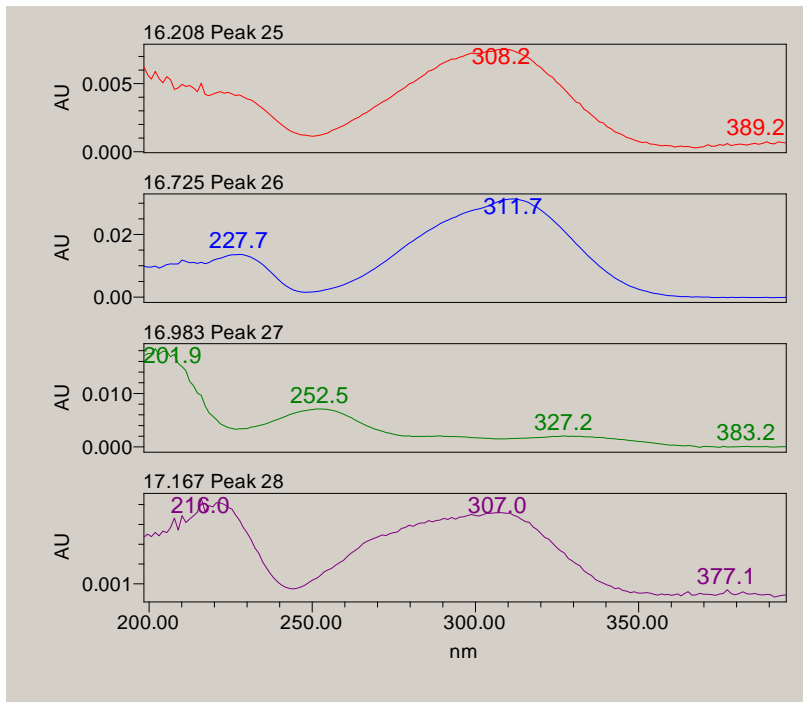
	Retention Time	Purity 1 Angle	Purity1 Threshold	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,293	18,002	7,832			734904,360	15,531	146606,516
2	2,451	11,180	16,598			259300,450	5,480	30605,238
3	2,795	13,137	55,326			148689,910	3,142	15375,950
4	2,986	14,657	40,321			190437,947	4,024	38597,842
5	3,538	18,838	90,000			7906,221	0,167	1450,797
6	3,685	4,788	90,000			11237,637	0,237	2256,105
7	3,821	43,259	90,000			35261,860	0,745	4720,889
8	4,271	22,687	90,000			82734,563	1,748	9525,176
9	4,940	29,385	90,000			91181,713	1,927	11933,415
10	5,207	17,462	90,000	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	9,299	55709,333	1,177	7704,351
11	6,671	15,399	90,000			69138,361	1,461	8648,005
12	8,627	17,790	90,000			101758,764	2,150	6489,579
13	10,119	5,926	90,000			44157,710	0,933	5174,139
14	11,157	19,400	90,000			27116,806	0,573	3184,591
15	11,451	1,283	33,246	Cumaric Acid peak1 200ng	2,805	161845,501	3,420	18963,636
16	11,988	28,819	90,000	Acid vanillic 40 ppm	8,867	58905,275	1,245	5756,746
17	12,775	6,220	90,000			27641,447	0,584	3480,693
18	13,864	7,923	90,000	Gallotannin, sumac, 11.5min	5,551	124439,104	2,630	14944,644
19	14,344	26,597	90,000			25472,784	0,538	3215,831
20	14,631	15,780	50,539			219201,905	4,632	26063,724
21	14,819	6,959	90,000			57635,132	1,218	7578,718
22	15,108	5,722	90,000			10162,095	0,215	1624,449
23	15,297	13,722	90,000			86932,647	1,837	12003,080
24	15,745	22,113	90,000			15536,209	0,328	1946,593
25	16,210	43,328	90,000			46740,248	0,988	3595,224
26	16,724	3,653	49,396	Cumaric Acid peak1 200ng	4,855	75314,624	1,592	10515,491
27	16,983	11,258	90,000			27002,764	0,571	3014,028
28	17,165	9,837	90,000			23677,626	0,500	3445,049

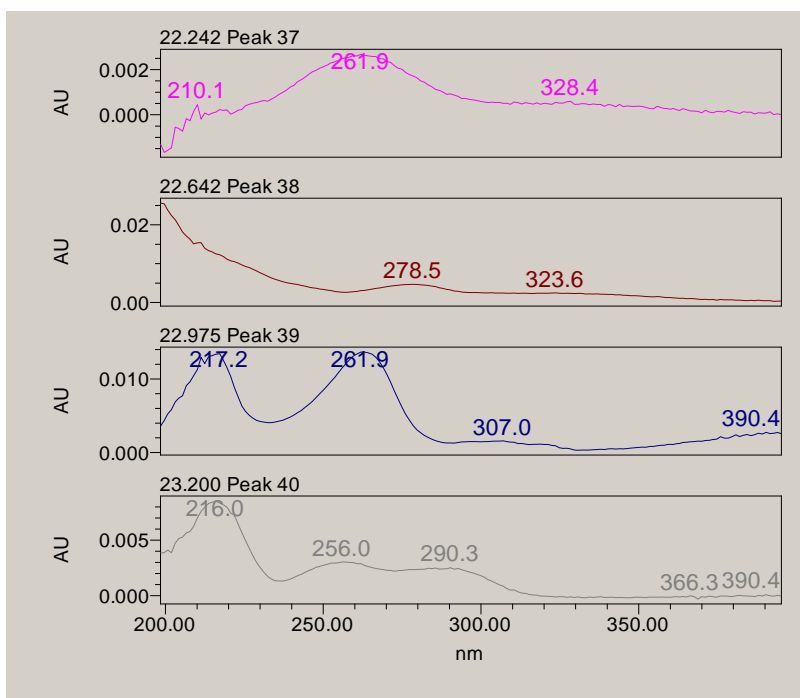
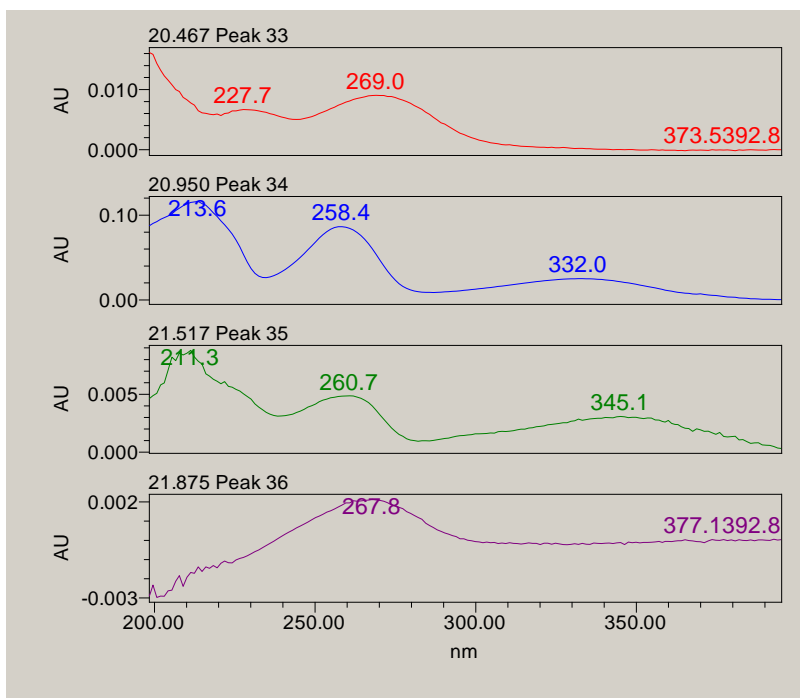
29	18,221	8,754	90,000			32332,326	0,683	5136,423
30	18,595	20,525	90,000			33797,039	0,714	3130,806
31	19,472	13,953	90,000			32836,579	0,694	5125,059
32	20,024	19,957	90,000			33854,659	0,715	3830,547
33	20,465	31,693	90,000			84834,242	1,793	9016,249
34	20,951	4,732	32,645			403017,545	8,517	41708,351
35	21,519	7,570	90,000			20405,254	0,431	2938,192
36	21,878	22,219	90,000			10207,921	0,216	2052,482
37	22,240	31,122	90,000			19746,171	0,417	2329,928
38	22,644	13,784	90,000	Oak component, 33.4min	9,469	51825,268	1,095	4190,313
39	22,979	7,270	90,000			70865,850	1,498	9817,483
40	23,199	14,209	90,000			13006,346	0,275	2276,441
41	23,369	17,406	90,000			14709,349	0,311	2865,440
42	23,503	14,314	90,000			57261,118	1,210	6633,058
43	24,019	11,340	90,000			10390,637	0,220	2219,880
44	24,143	48,241	90,000			57507,392	1,215	5599,513
45	24,684	16,810	90,000			64492,951	1,363	6984,931
46	24,940	12,627	90,000			46706,083	0,987	4100,938
47	25,687	6,956	90,000	Tanino catequónico restos poda 20C_1h, 21.31min, 101219	9,607	26677,440	0,564	3746,432
48	26,743	3,771	90,000	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 16.74min, 121219	6,717	6287,277	0,133	1101,928
49	27,384	3,412	35,802			387968,108	8,199	53542,810
50	28,386	0,957	32,636			384509,136	8,126	51313,506
51	30,508	2,826	90,000			48701,896	1,029	5655,090



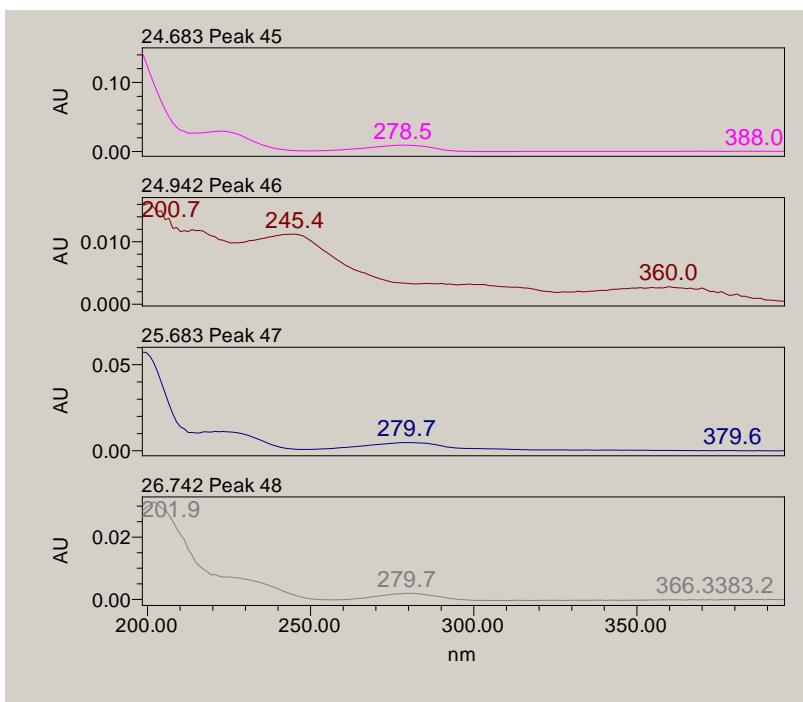
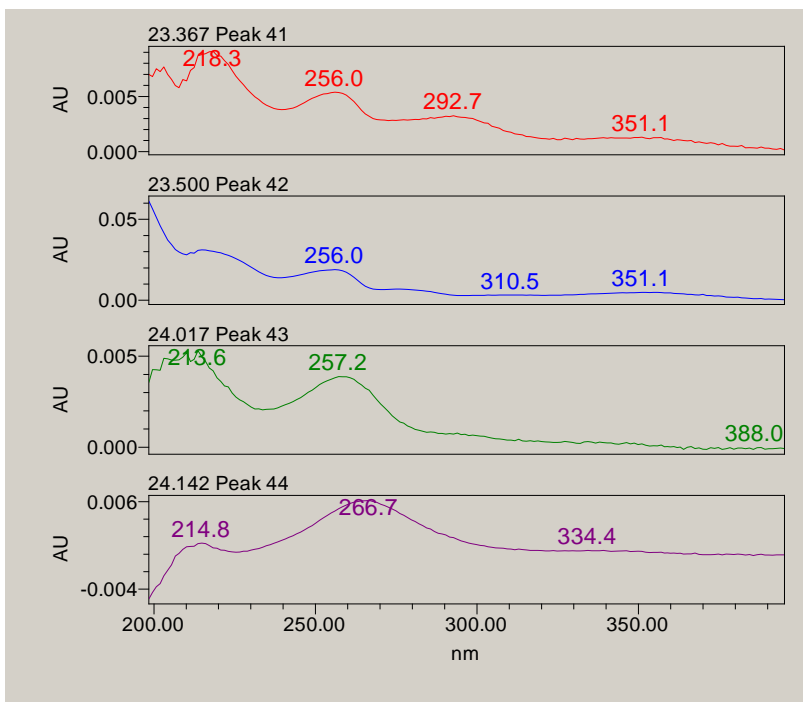


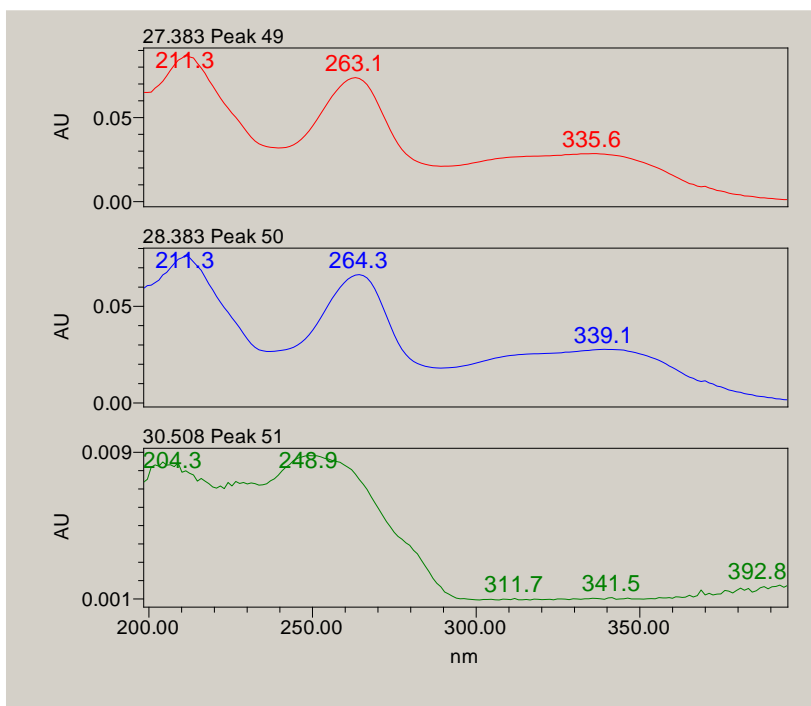










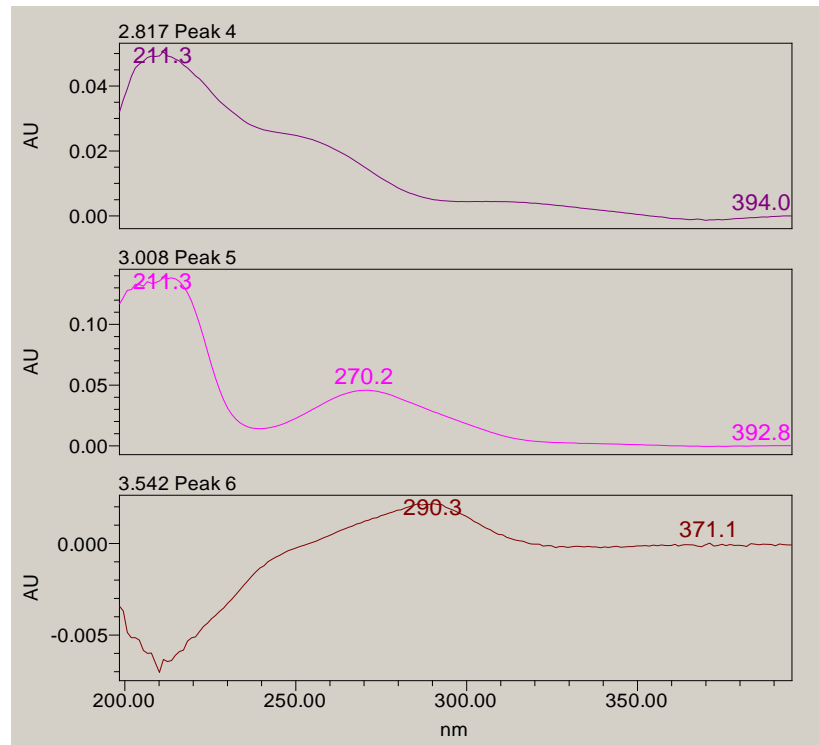
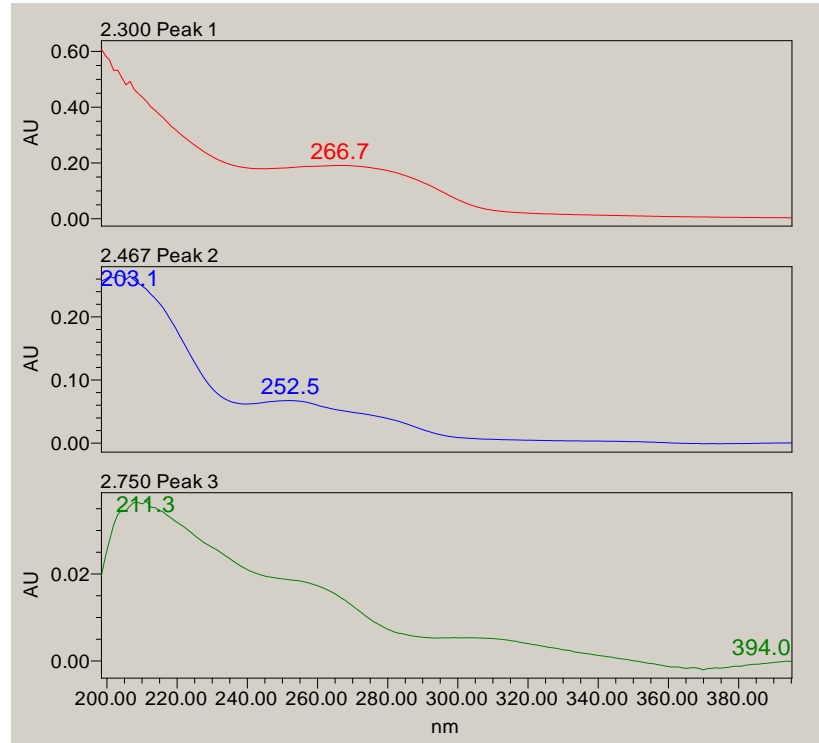


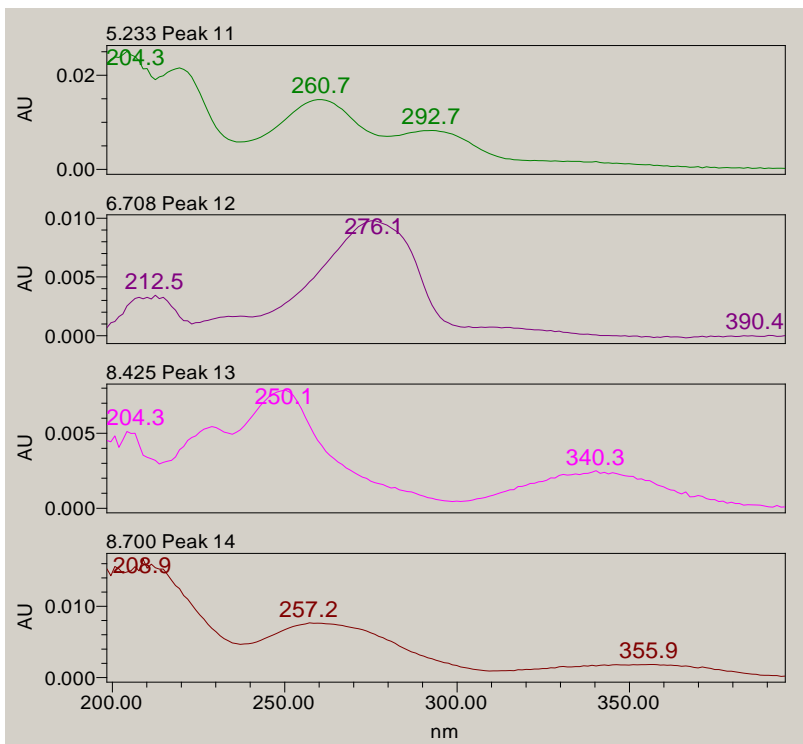
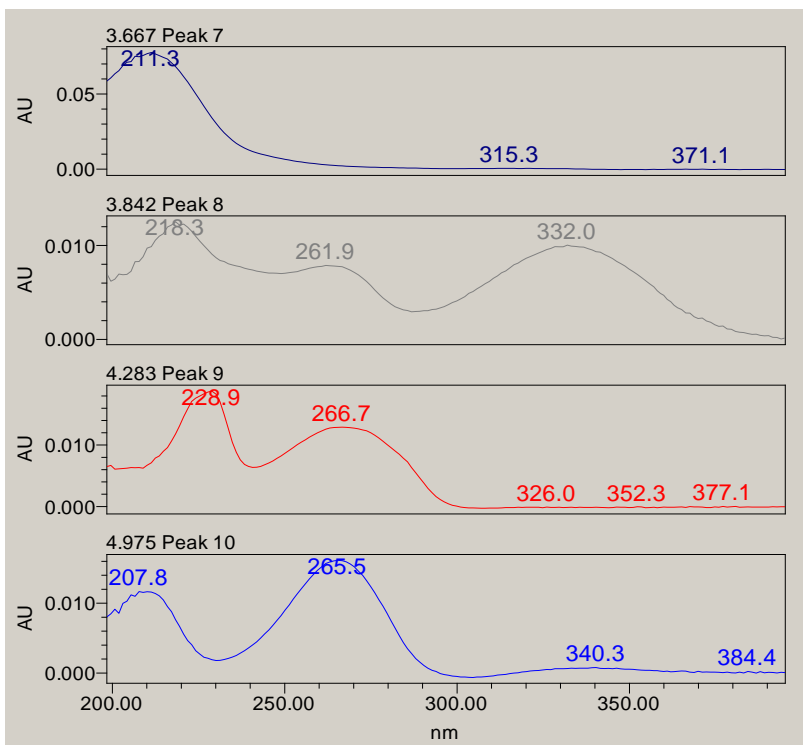
N1 <50 µm

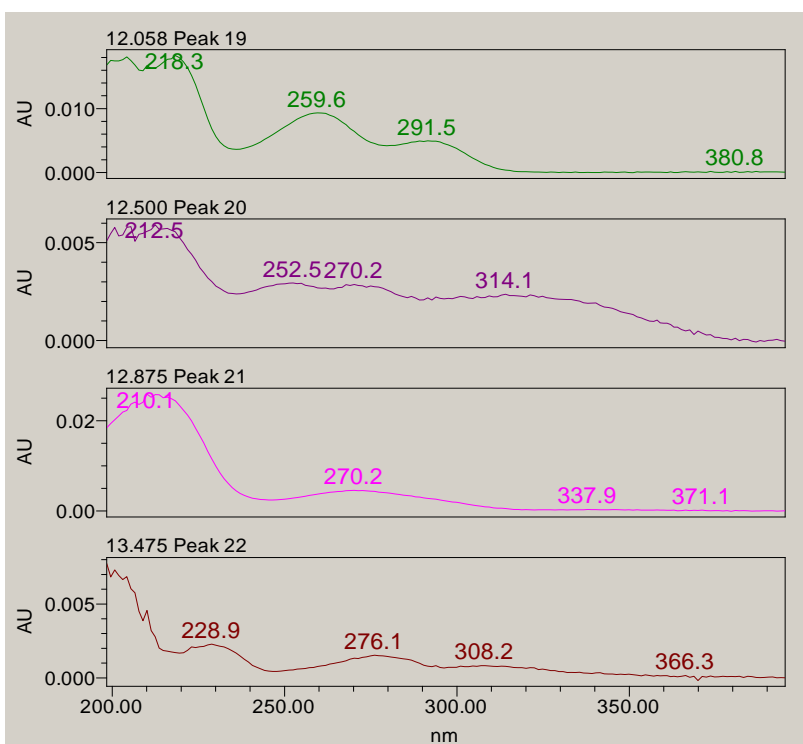
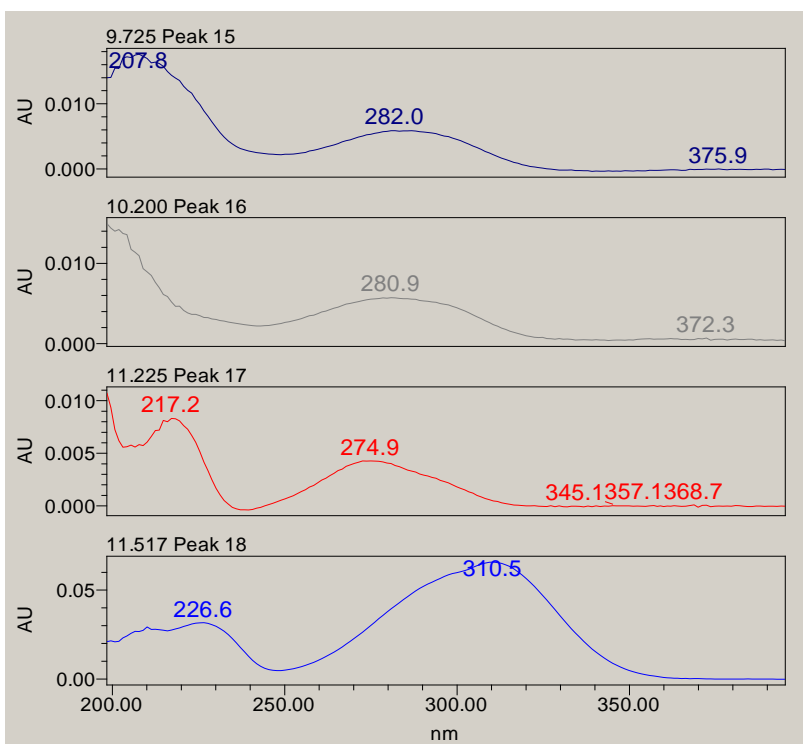
	Retention Time	Purity 1 Angle	Purity1 Threshold	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,304	20,477	5,750			1008338,879	18,442	191714,409
2	2,469	11,570	13,335			354606,152	6,485	48004,385
3	2,754					81468,992	1,490	11991,759
4	2,817	10,086	45,458			93933,358	1,718	14331,890
5	3,009	12,759	30,942	Gallotannin, sumac, 10.4min	8,973	223209,360	4,082	45703,294
6	3,546	8,982	90,000			5679,751	0,104	1275,793
7	3,668	6,538	70,655			12077,117	0,221	1570,309
8	3,843	40,233	90,000			51109,536	0,935	6925,334
9	4,284	16,444	90,000			107415,610	1,965	12663,091
10	4,974	28,928	90,000			114151,030	2,088	14746,476
11	5,233	20,299	90,000	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	8,601	69083,015	1,263	9656,366
12	6,707	7,012	90,000			74457,957	1,362	9195,867
13	8,427	4,327	90,000			14916,491	0,273	2255,945
14	8,698	17,702	90,000			91081,518	1,666	6887,833
15	9,726	21,397	90,000	Gallotannin, tara, 9.9min	7,403	53693,024	0,982	4836,966
16	10,198	4,745	90,000			44092,445	0,806	5216,962
17	11,228	16,522	90,000			34849,833	0,637	4125,772
18	11,520	0,842	21,029	Cumaric Acid peak1 200ng	2,682	208645,557	3,816	24256,510
19	12,062	28,518	90,000	Acid vanilic 40 ppm	5,637	75239,059	1,376	6048,663
20	12,497	22,365	90,000			32391,151	0,592	2829,689
21	12,872	6,920	90,000			41936,862	0,767	4526,005
22	13,478	12,219	90,000			7166,926	0,131	1321,814
23	13,954	7,074	90,000	Tanino gálico de la Tara 3.9min aprox.	5,339	113727,391	2,080	14254,886
24	14,430	32,275	90,000			23280,465	0,426	3364,418
25	14,724	14,142	32,941			251002,404	4,591	31544,681
26	14,901	8,119	90,000			47033,172	0,860	6485,515
27	15,185	5,399	90,000			11941,271	0,218	1886,865

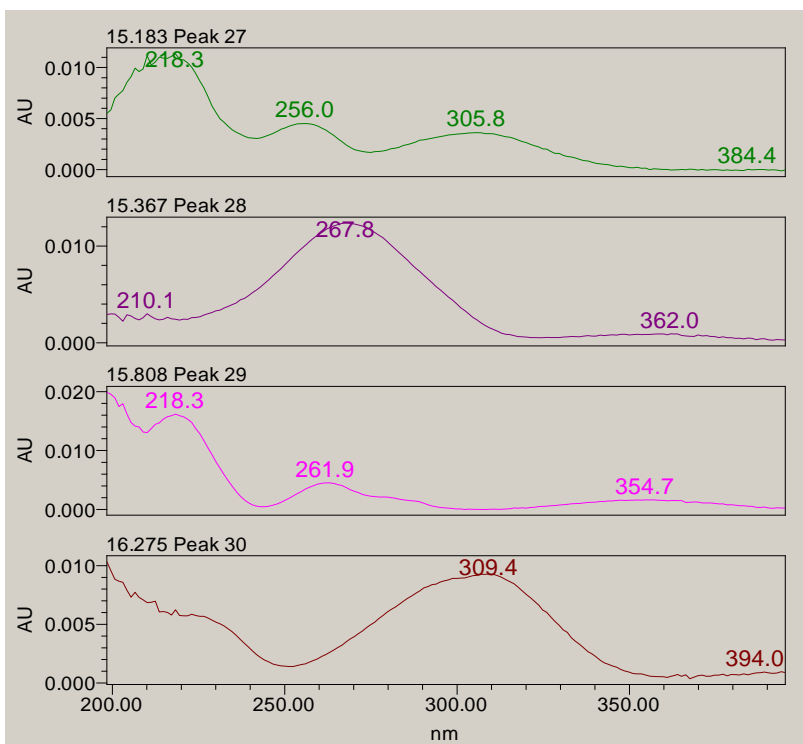
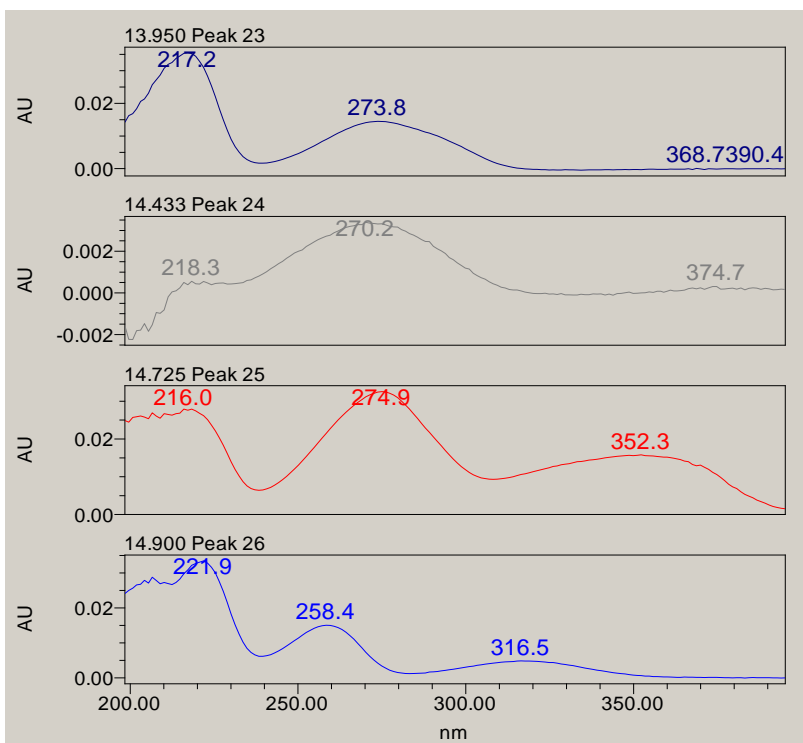
28	15,368	21,416	90,000			91175,498	1,668	12211,229
29	15,810	20,197	90,000			23230,557	0,425	2908,523
30	16,279	41,769	90,000			50792,349	0,929	4155,707
31	16,789	3,240	29,809	Cumaric Acid peak1 200ng	4,811	104098,460	1,904	14394,626
32	17,053	13,165	90,000			24053,004	0,440	2879,522
33	17,233	13,057	90,000			26810,705	0,490	3905,044
34	18,283	9,382	90,000			29754,896	0,544	4676,351
35	18,670	18,300	90,000			24611,614	0,450	2697,313
36	19,572	15,607	90,000			45636,307	0,835	6654,937
37	20,125	24,355	90,000			54865,765	1,003	5786,957
38	20,562	30,444	90,000			92712,196	1,696	9150,855
39	21,052	6,298	27,089			419602,965	7,674	43882,430
40	21,626	5,897	90,000			22699,161	0,415	3356,505
41	21,978	21,159	90,000			11304,570	0,207	2309,088
42	22,339	26,883	90,000			21282,096	0,389	2370,793
43	22,742	14,087	90,000			65035,916	1,189	5261,333
44	23,074	5,304	57,968			110601,138	2,023	15068,652
45	23,281	15,154	90,000			19301,979	0,353	3286,461
46	23,452	14,166	90,000			18001,818	0,329	3140,279
47	23,589	17,748	83,632			50391,623	0,922	6405,663
48	24,100	12,240	90,000			8051,719	0,147	1910,986
49	24,225	16,917	90,000			46920,941	0,858	5845,776
50	24,368	9,622	90,000			12925,557	0,236	2048,172
51	24,771	22,798	90,000			56870,952	1,040	5570,064
52	25,031	9,997	90,000			50502,383	0,924	4799,512
53	25,794	7,809	90,000	Tanino catequónico restos poda 5%Meta_4, 21.27min, 041219	8,619	23670,839	0,433	3118,932
54	26,857	4,233	90,000	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 16.74min, 121219	4,734	7475,608	0,137	1355,848

55	27,525	4,054	37,755			334888,709	6,125	46457,582
56	28,539	1,799	36,044			326638,064	5,974	43613,735
57	30,626	3,181	90,000			47332,694	0,866	5590,860

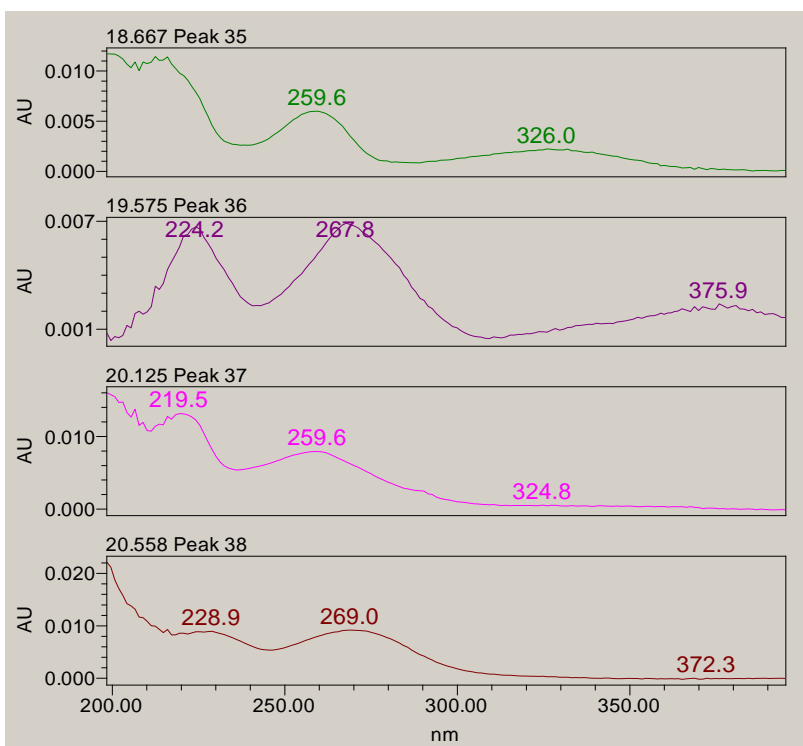
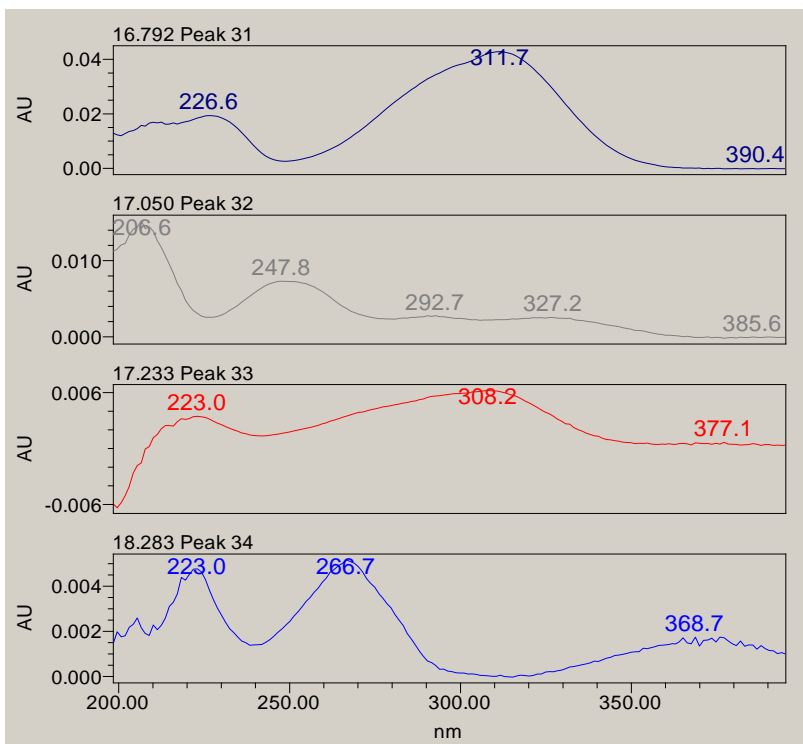


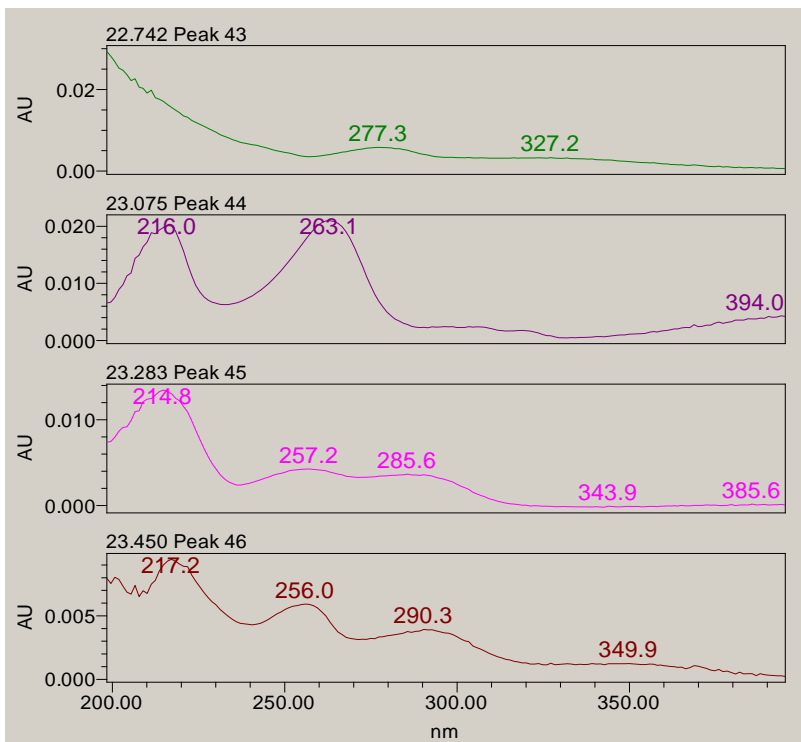
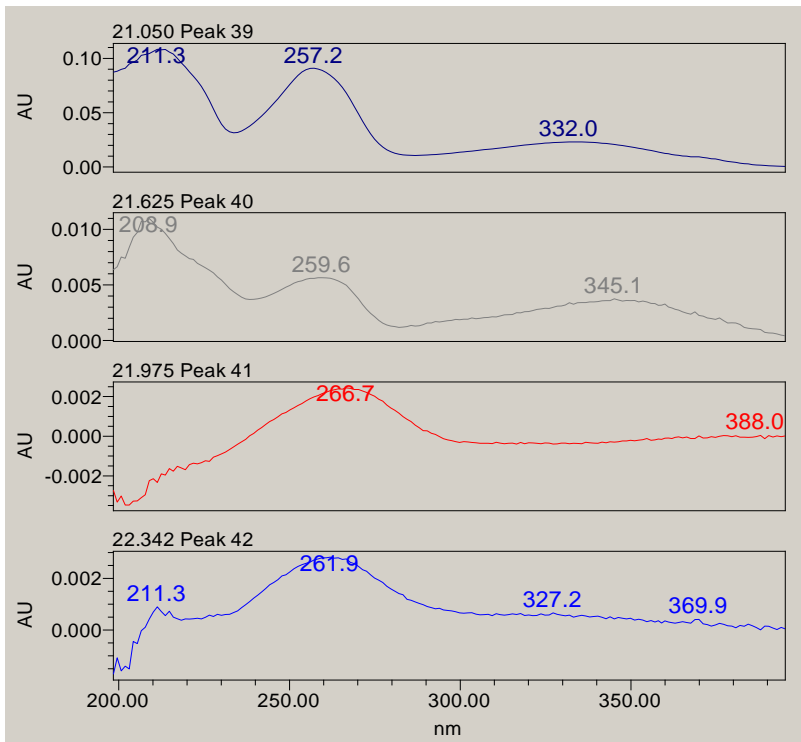


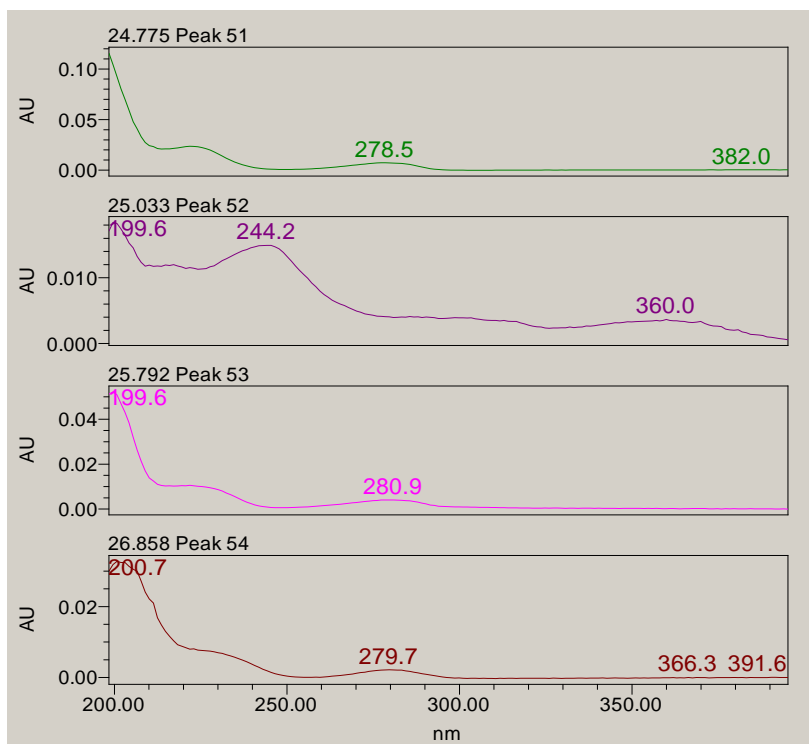
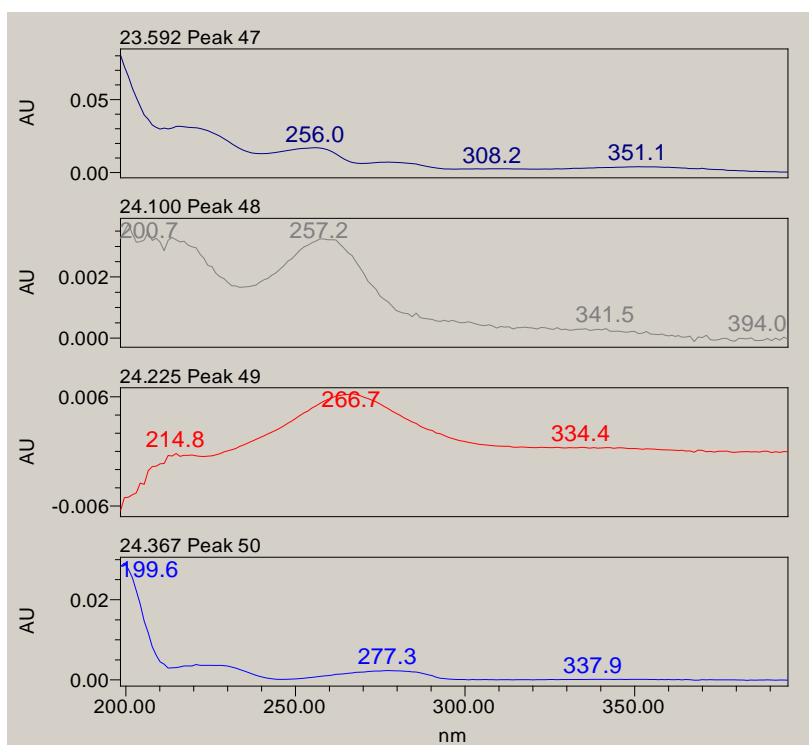


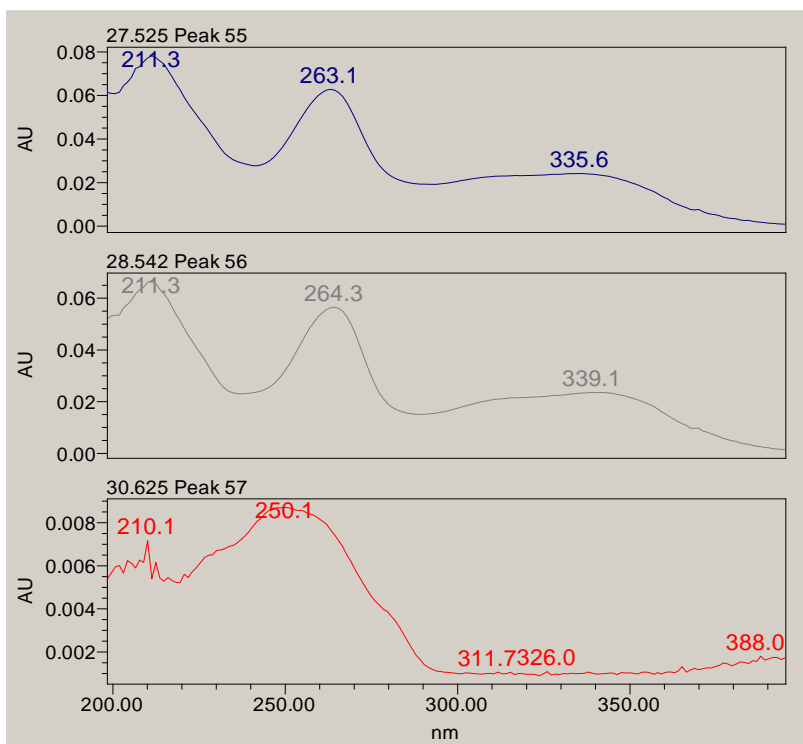








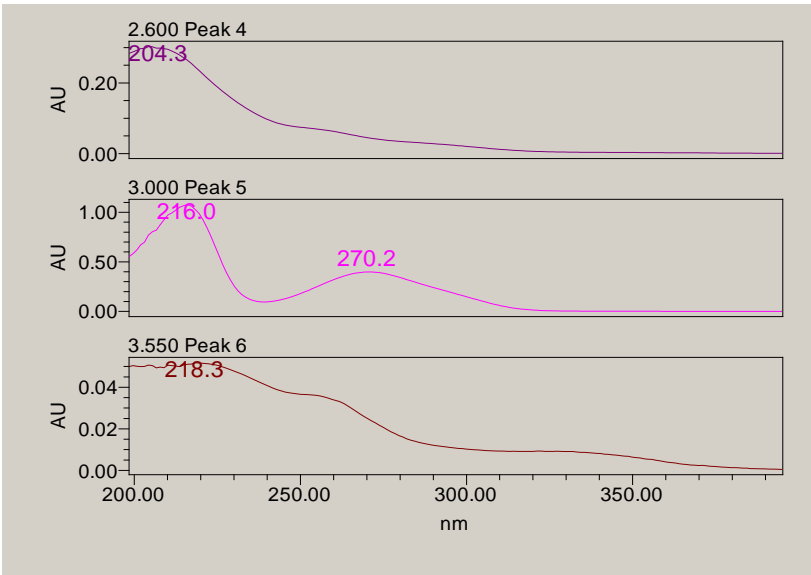
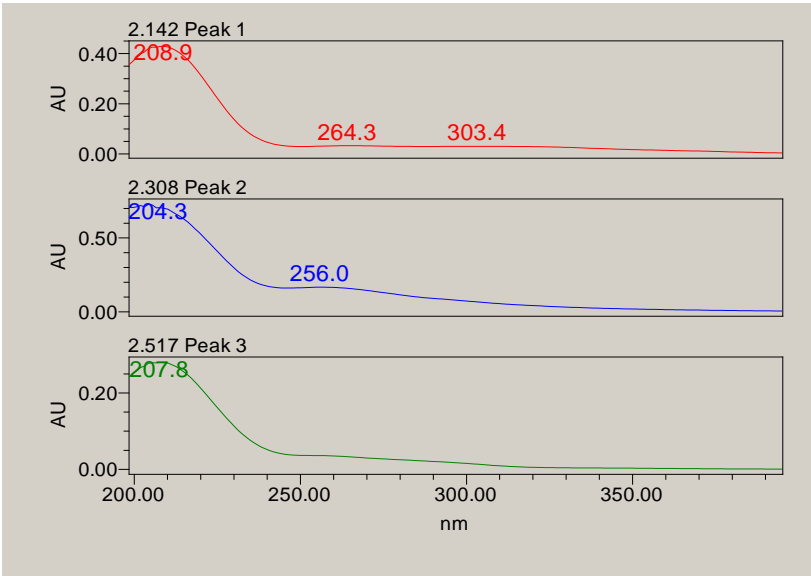


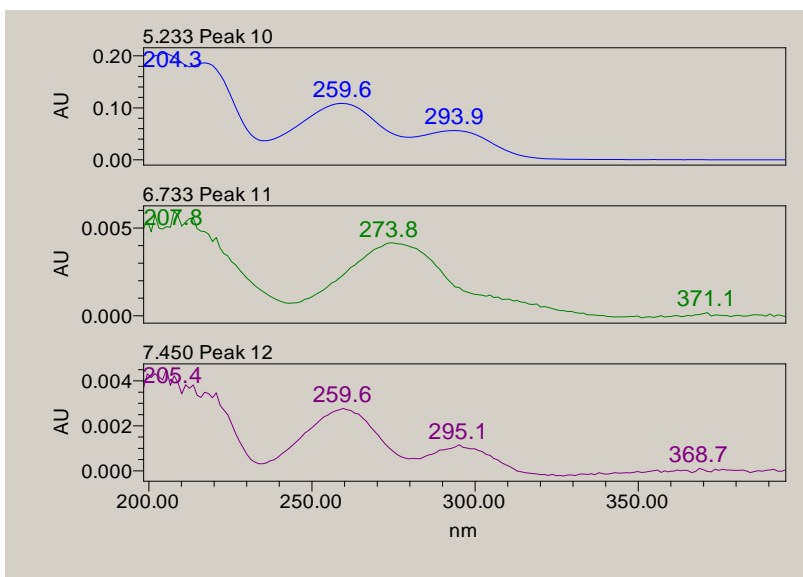
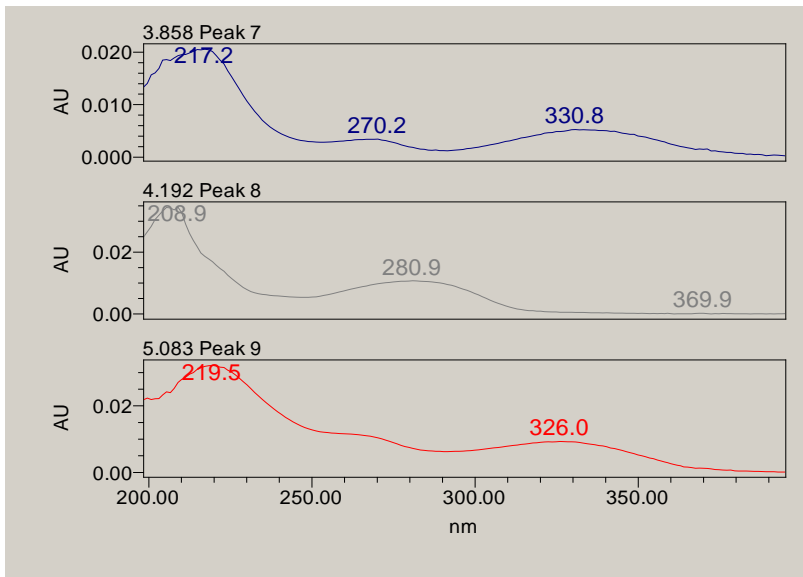


N2 500 µm

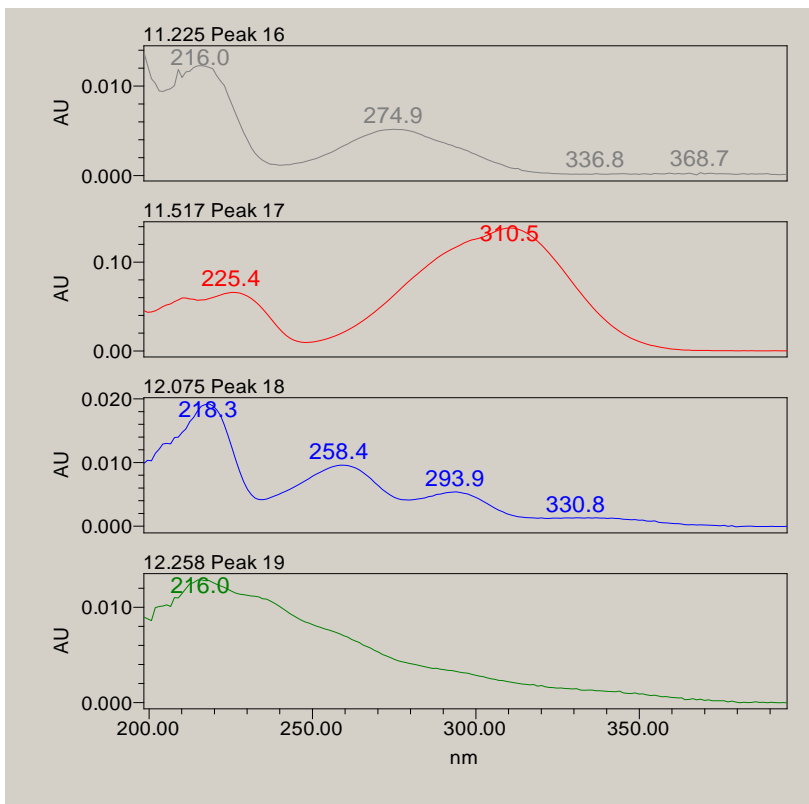
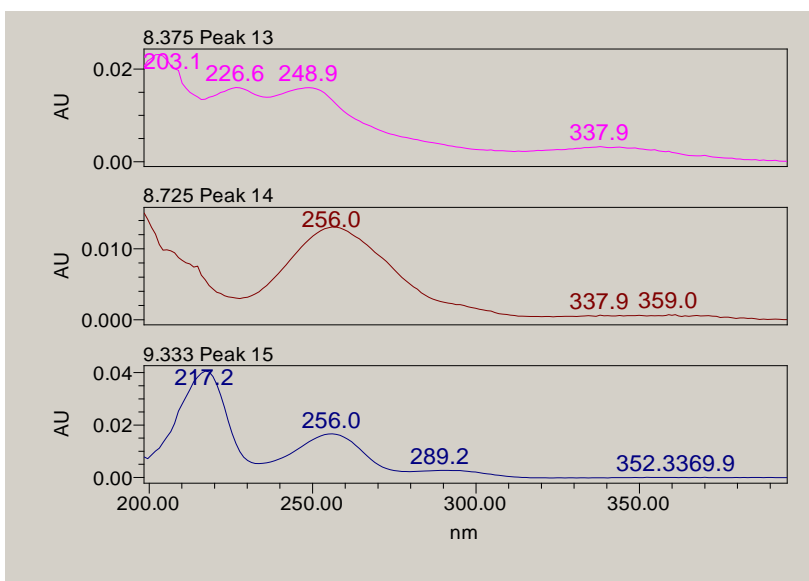
	Retention Time	Purity1 Angle	Purity1 Threshold	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,141	9,332	7,963			265184,757	1,797	32005,187
2	2,311	11,078	4,660			800429,356	5,423	141026,304
3	2,520	6,183	9,541			157113,951	1,064	29470,940
4	2,602	12,462	10,665			360966,786	2,446	43560,281
5	3,002	4,648	4,891	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1,635	1955409,313	13,248	397917,226
6	3,546	18,089	49,290	Chestnut component, 5.2min	9,907	227894,239	1,544	24240,993
7	3,861	21,724	90,000			21918,253	0,148	3308,291
8	4,191	15,731	90,000			68490,870	0,464	9884,900
9	5,087	7,799	90,000			66070,142	0,448	10205,409
10	5,237	3,208	18,374	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	1,132	429607,748	2,911	65089,922
11	6,732	18,421	90,000			38700,211	0,262	3919,962
12	7,452	36,064	90,000			10035,426	0,068	1427,479
13	8,374	11,226	90,000			93907,005	0,636	6652,767
14	8,728	13,974	90,000			109417,059	0,741	8782,597
15	9,330	7,763	90,000			46227,860	0,313	4182,995
16	11,223	12,296	90,000	Gallotannin, chestnut, 15.2min	6,053	42341,252	0,287	5055,624
17	11,513	0,837	11,967	Cumaric Acid peak1 200ng	2,955	445690,362	3,020	50355,397
18	12,074	15,759	90,000	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	8,992	58091,155	0,394	5901,605
19	12,259	9,229	90,000	Chestnut component, 5.2min	7,646	45040,667	0,305	5111,002
20	12,447	31,161	90,000			26118,329	0,177	2556,355
21	12,892	8,900	90,000			76448,505	0,518	7137,715
22	13,958	5,969	90,000	Gallotannin, sumac, 11.5min	7,353	107515,090	0,728	13843,985
23	14,151	12,529	90,000			16706,112	0,113	2296,029
24	14,405	19,697	90,000			26556,719	0,180	3143,641
25	14,744	12,093	90,000			132511,154	0,898	15704,849
26	14,904	6,219	90,000			17675,844	0,120	2921,823
27	15,289	25,002	90,000			34202,114	0,232	3110,736
28	15,725	6,172	90,000			9533,170	0,065	1815,694
29	15,831	22,324	90,000			14592,815	0,099	2683,412
30	16,456	8,843	90,000			104463,627	0,708	9590,854
31	16,823	14,241	17,345	Cumaric Acid peak1 200ng	5,151	285337,223	1,933	28455,938

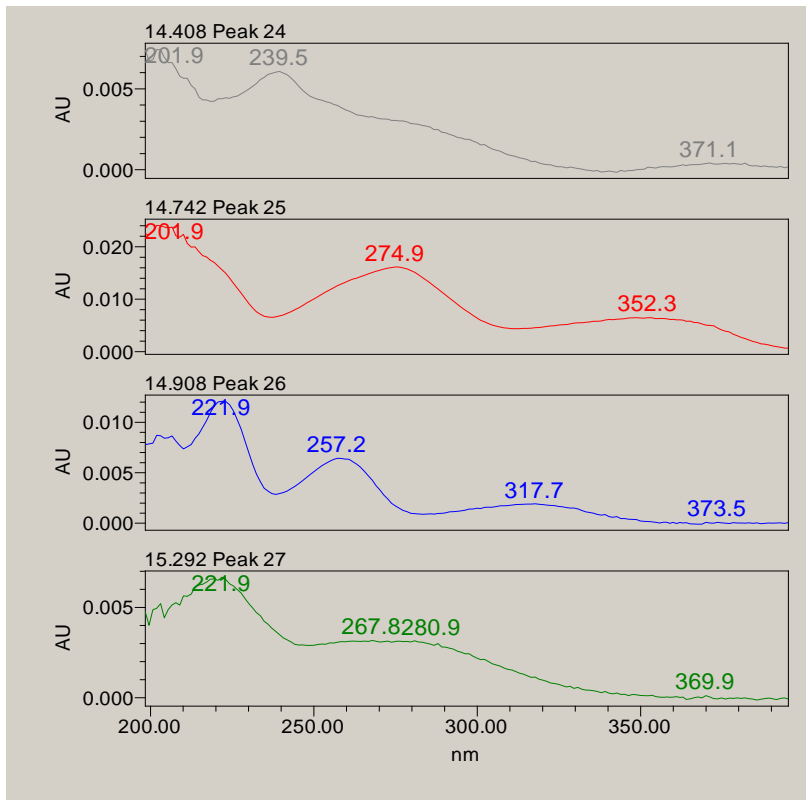
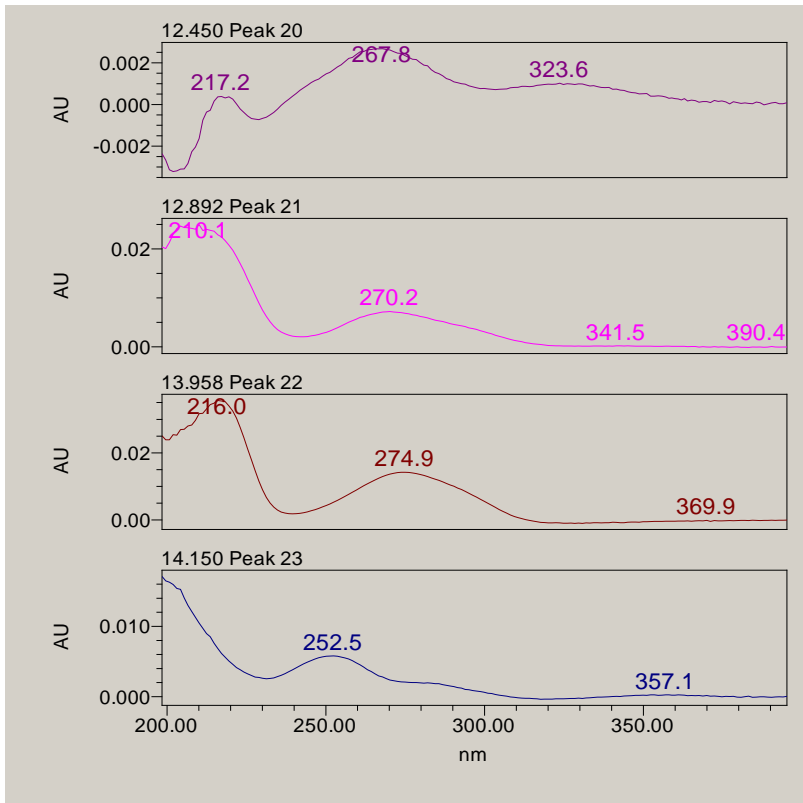
32	17,069	7,225	90,000			48966,734	0,332	6573,674
33	17,247	8,275	90,000	Cumaric Acid peak1 200ng	3,437	37758,043	0,256	4431,202
34	17,729	15,731	90,000			35803,667	0,243	3016,727
35	17,922	9,225	90,000			13385,891	0,091	2216,208
36	18,108	7,425	90,000			47852,408	0,324	7526,787
37	19,131	5,412	90,000			24127,797	0,163	4174,285
38	19,362	30,897	90,000			44255,581	0,300	3789,412
39	19,701	7,849	90,000			82443,902	0,559	10308,549
40	20,037	20,393	90,000			83269,916	0,564	7234,111
41	20,143	5,662	90,000	Ellagitannin, roldor, 20.2min	9,842	28841,449	0,195	5450,622
42	20,327	12,400	90,000			42598,061	0,289	4009,795
43	20,599	4,208	66,940			124335,222	0,842	16535,541
44	21,030	7,808	18,949			626601,780	4,245	66957,704
45	21,443	1,545	55,460			85150,234	0,577	16313,026
46	21,590	0,780	2,977			1439236,40 4	9,751	214357,98 4
47	21,954	13,078	90,000			53325,916	0,361	6981,988
48	22,089	7,992	90,000			9994,541	0,068	2130,565
49	22,417	15,185	57,081	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	9,676	202480,297	1,372	21944,055
50	22,622	10,284	90,000			40032,583	0,271	6166,832
51	22,727	7,688	90,000			34365,403	0,233	5396,820
52	22,884	14,671	90,000			25685,547	0,174	3993,212
53	23,094	11,658	90,000			53702,570	0,364	7182,609
54	23,260	7,908	90,000			60997,648	0,413	7402,945
55	23,446	9,958	40,565			121702,810	0,825	15812,543
56	23,583	9,330	37,886			152591,243	1,034	19158,051
57	23,994	7,464	90,000			44582,369	0,302	4648,180
58	24,241	43,859	90,000			54099,162	0,367	5794,656
59	24,535	16,230	90,000			7035,307	0,048	1486,166
60	24,884	8,000	2,044			4160753,38 3	28,18 9	532268,60 7
61	25,674	14,108	90,000			22651,629	0,153	3602,407
62	25,816	15,030	90,000			34442,152	0,233	4611,725
63	26,197	22,516	90,000			11967,447	0,081	2248,763
64	26,734	10,507	90,000	Ellagic Acid	9,464	43975,912	0,298	6117,741
65	26,857	5,270	90,000	Tanino catequónico restos poda 5% H2SO4, 22.90min, 181219	4,803	16816,646	0,114	2883,517
66	27,567	8,306	27,422			389097,264	2,636	46719,418
67	27,836	7,830	90,000			49032,381	0,332	8378,101
68	27,948	7,946	90,000			103542,242	0,701	13877,691
69	28,574	1,538	90,000			148332,252	1,005	20672,484
70	32,836	2,855	90,000			60362,931	0,409	7612,604

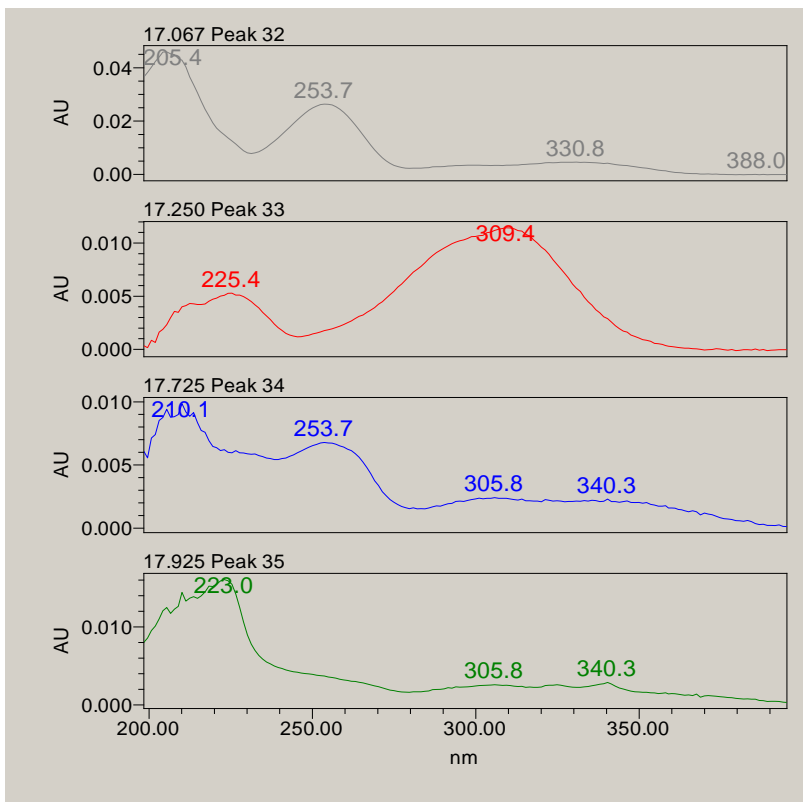
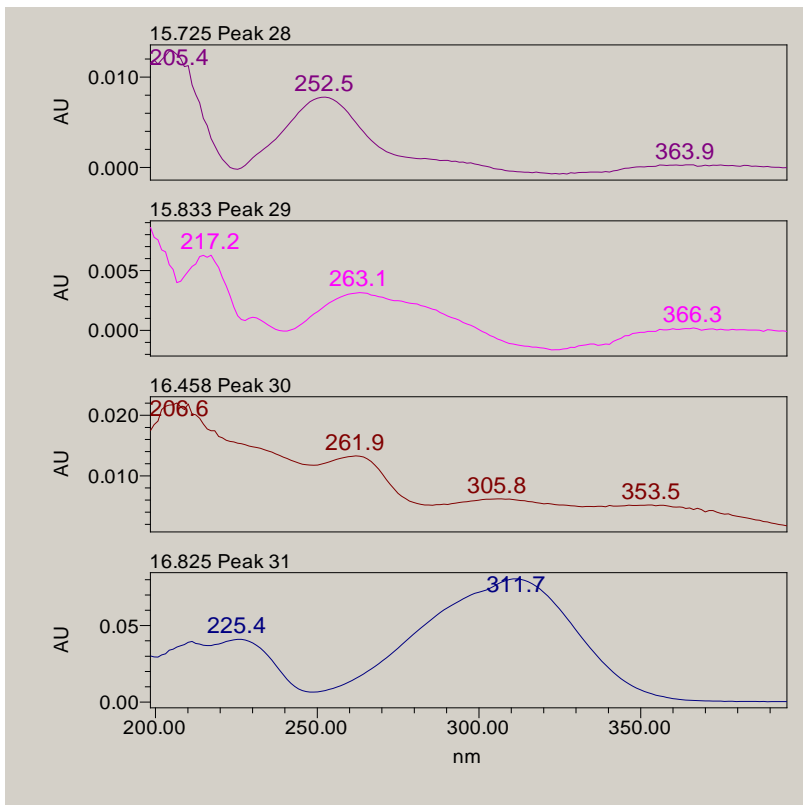


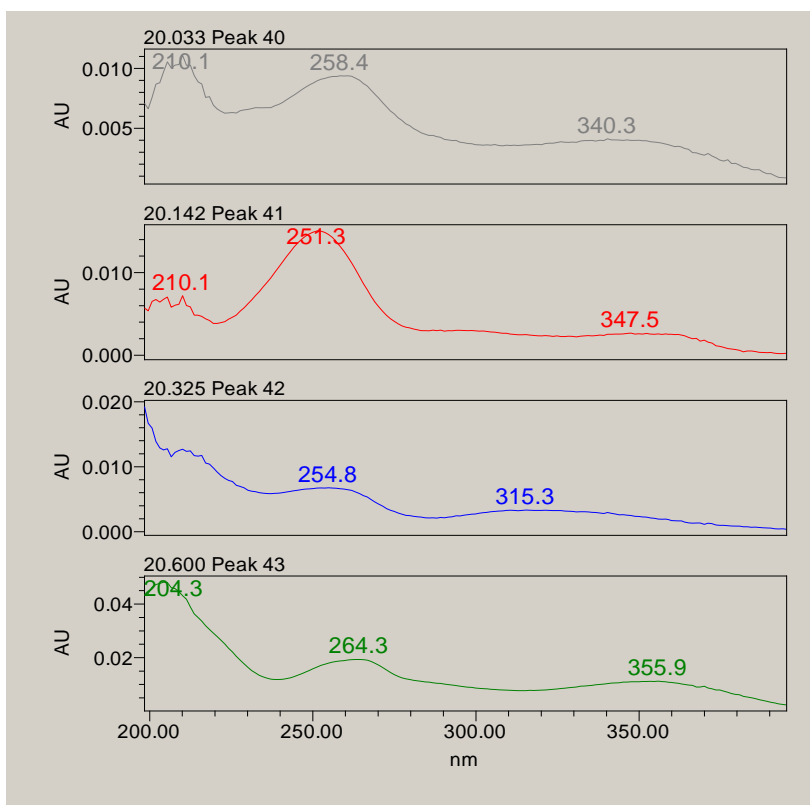
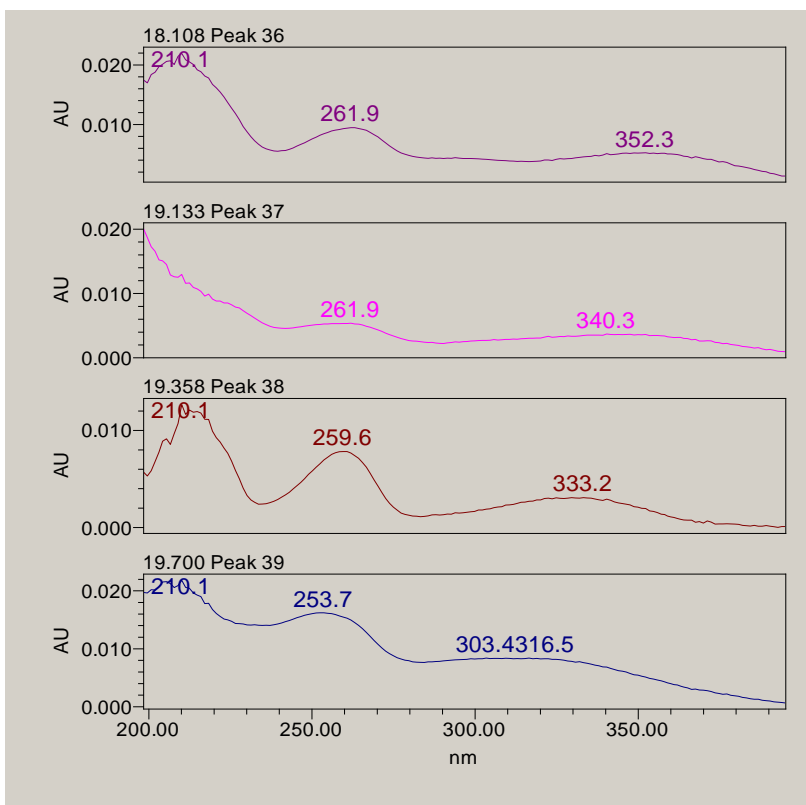


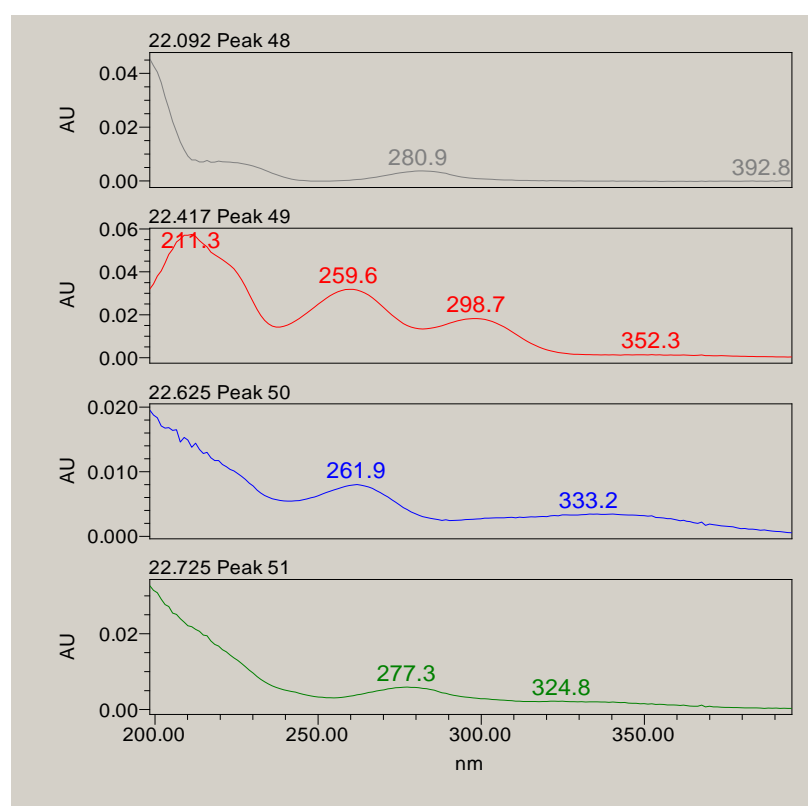
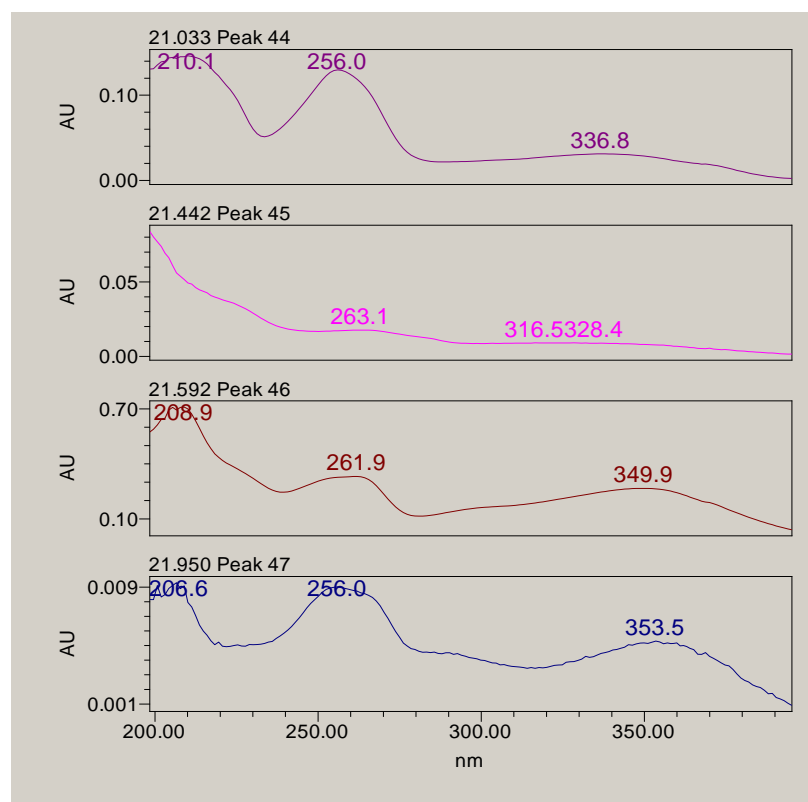


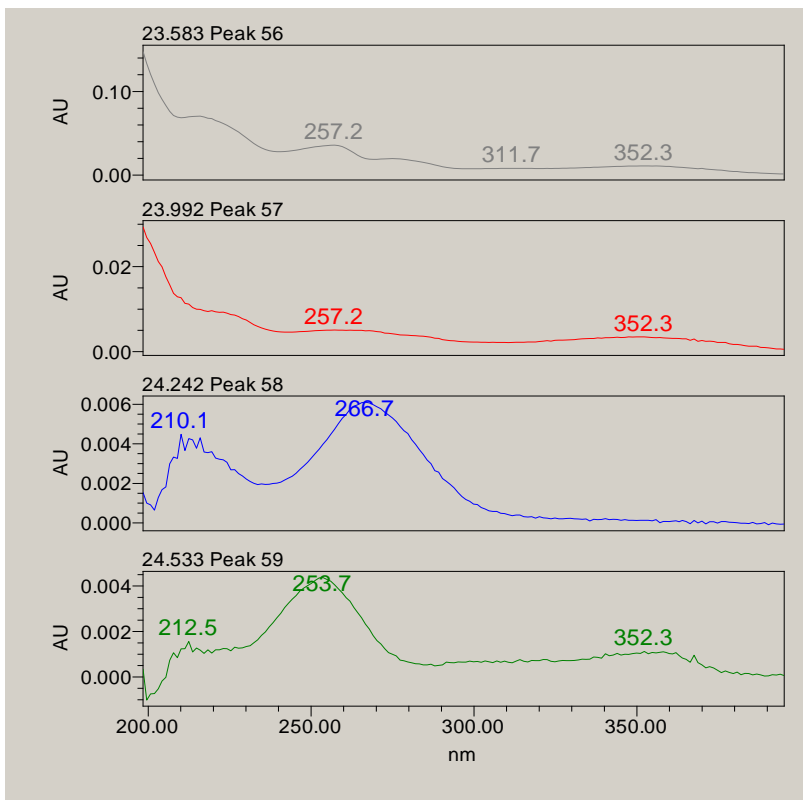
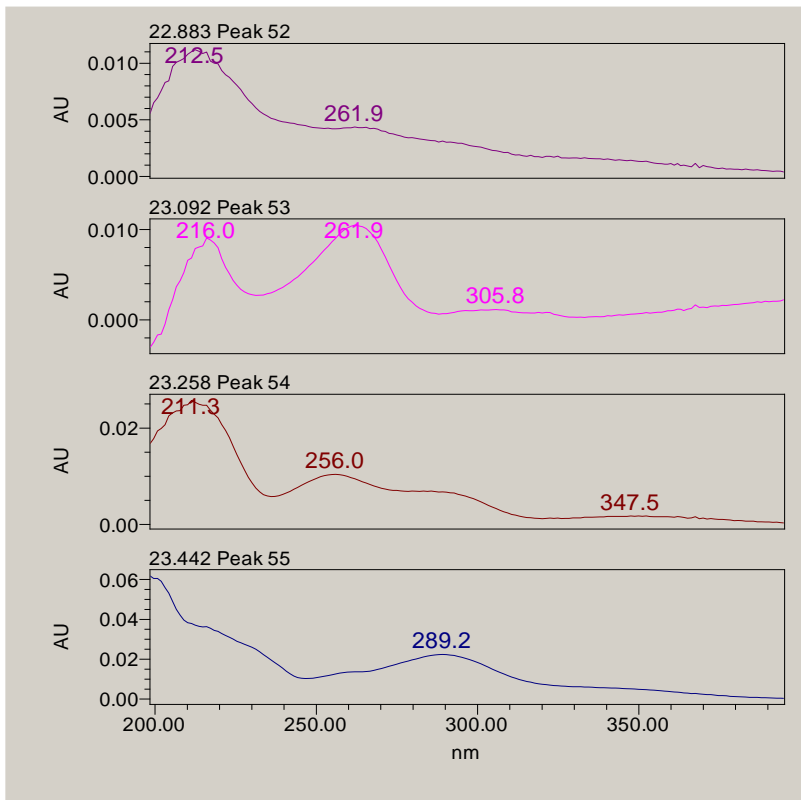


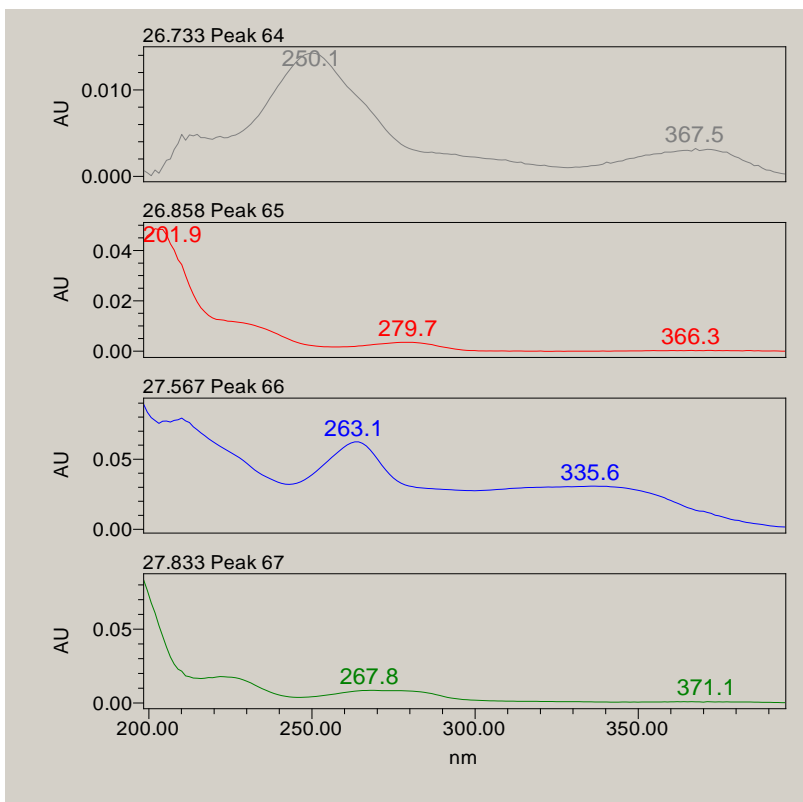
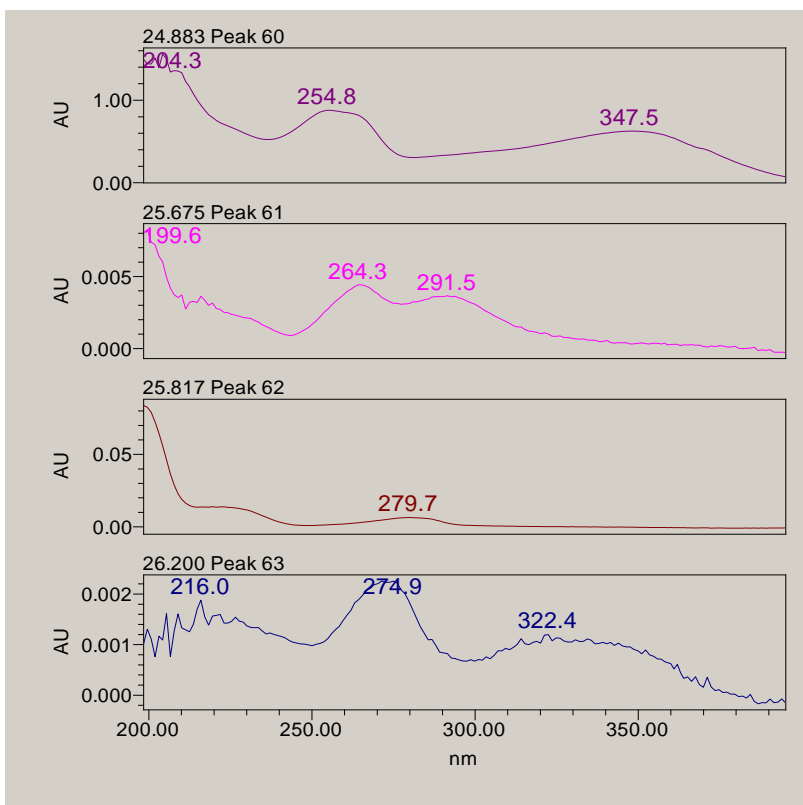


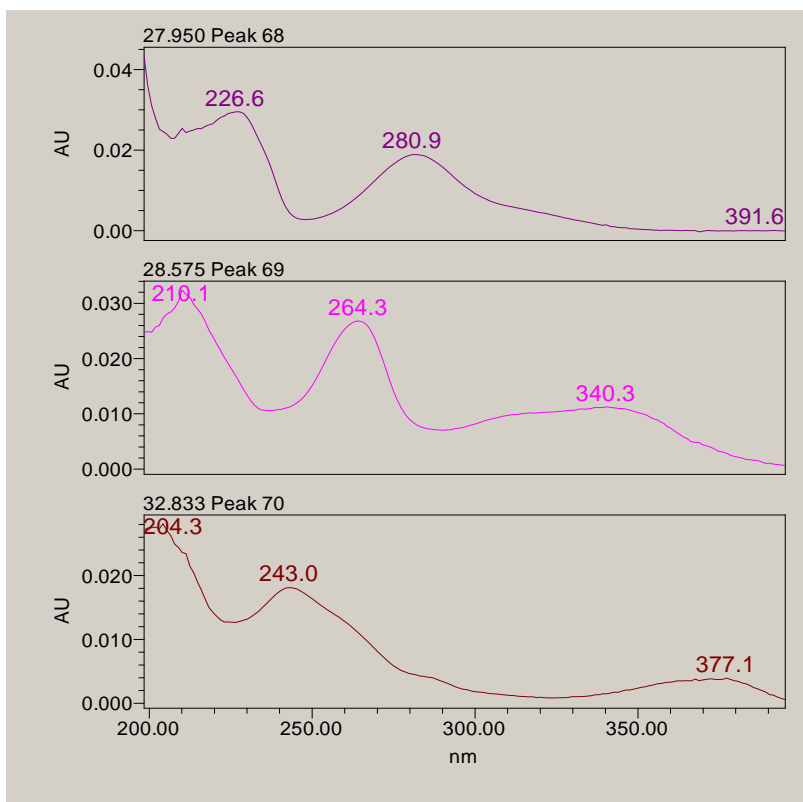












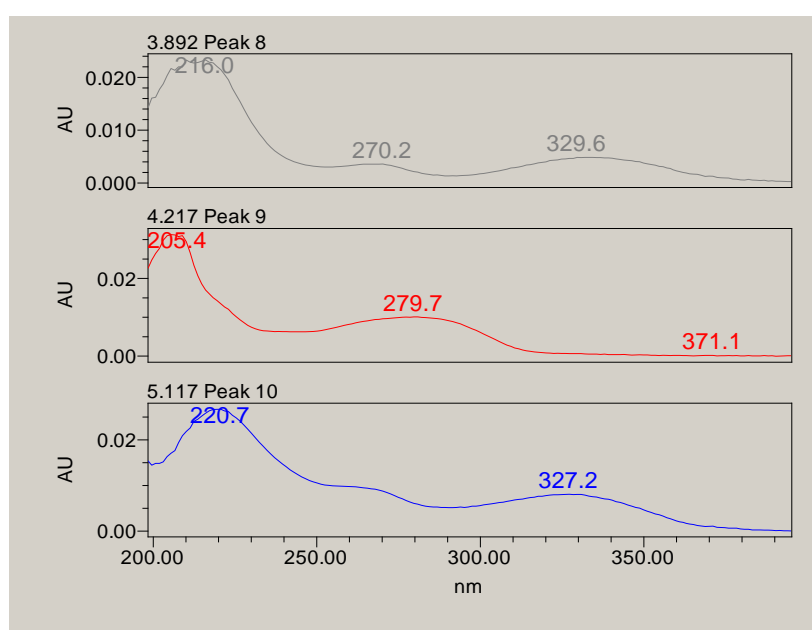


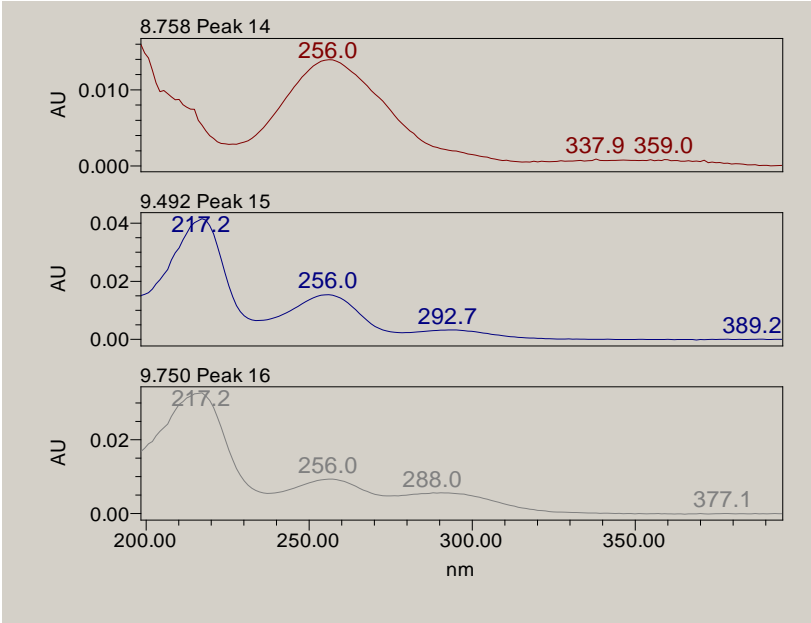
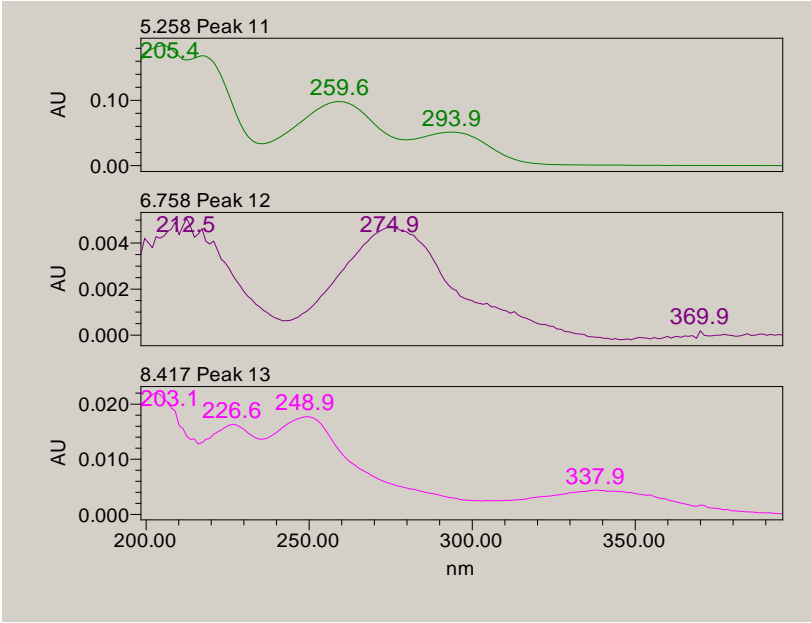
N2 250 µm

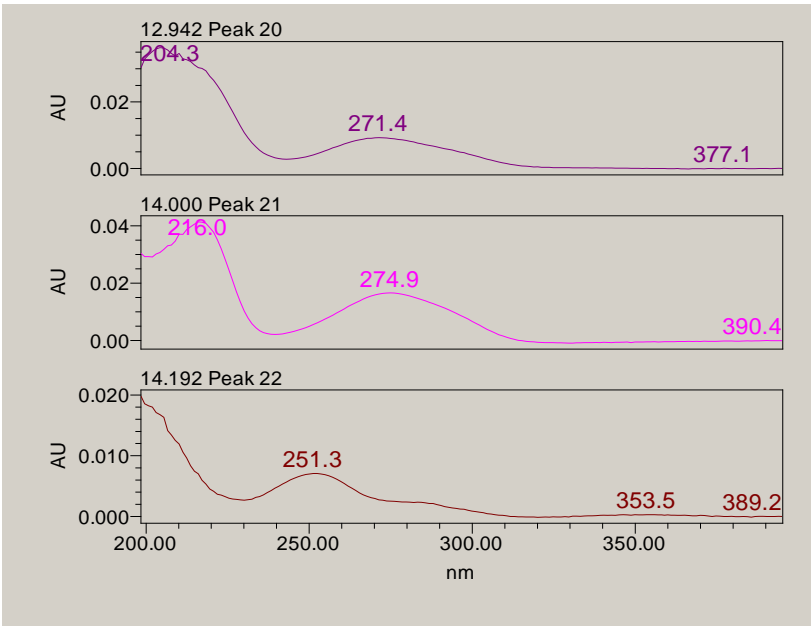
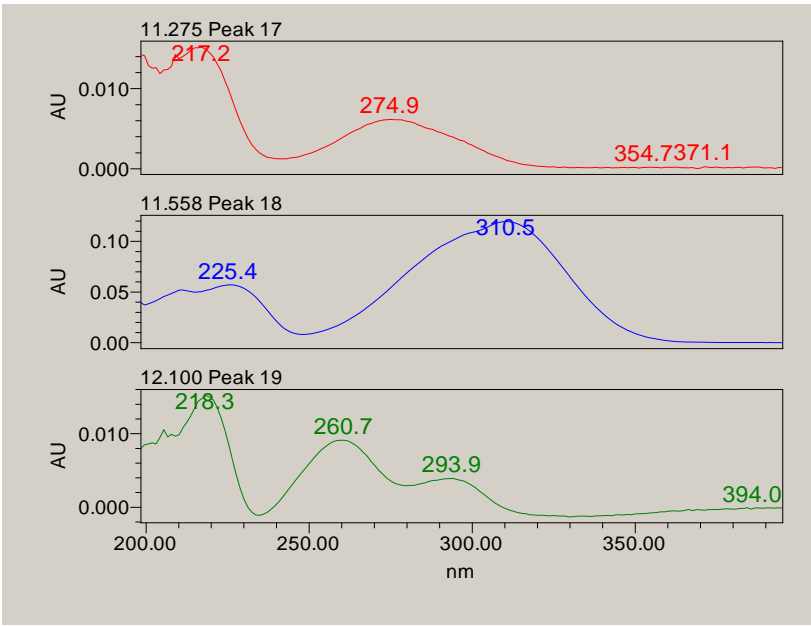
	Retention Time	Purity 1 Angle	Purity1 Threshold	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,045	9,003	10,029	Tanino catequónico de Mimosa 33-34min aprox.	6,849	84430,796	0,683	17074,975
2	2,146	7,943	6,330			226967,961	1,837	35213,117
3	2,311	11,227	3,905			924828,975	7,486	163308,909
4	2,541	8,168	8,593			186615,330	1,511	31870,395
5	2,624	13,139	9,123			426798,723	3,455	50722,381
6	3,018	4,925	4,693	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1,792	1808137,594	14,636	365096,813
7	3,566	18,565	40,218			238844,424	1,933	26467,084
8	3,889	21,129	90,000			21973,510	0,178	3467,283
9	4,218	16,957	90,000			66502,487	0,538	9667,917
10	5,116	9,442	90,000			52900,047	0,428	8551,408
11	5,260	4,117	18,848	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	1,286	392141,964	3,174	58751,924
12	6,758	15,136	90,000			43159,442	0,349	4468,803
13	8,414	8,502	90,000			80378,472	0,651	6493,444
14	8,754	15,645	90,000			110929,192	0,898	9120,284
15	9,490	6,690	90,000			40601,306	0,329	3950,751
16	9,751	11,059	90,000			70921,147	0,574	5027,777
17	11,271	12,157	90,000	Gallotannin, chestnut, 15.2min	6,168	50921,408	0,412	5960,902
18	11,561	0,670	11,520	Cumaric Acid peak1 200ng	3,002	383715,337	3,106	43386,040
19	12,096	19,687	90,000			42653,299	0,345	5154,217
20	12,945	5,372	90,000	Catechin Gallate 200ng, 23.0min	9,989	90861,862	0,735	9252,441
21	13,999	5,895	90,000	Gallotannin, sumac, 11.5min	6,728	125036,354	1,012	16140,759
22	14,188	13,909	90,000			19417,392	0,157	2798,126
23	14,458	23,286	90,000			25803,619	0,209	2987,380
24	14,786	12,210	90,000			149997,768	1,214	17911,205
25	14,942	5,496	90,000			24594,599	0,199	3762,440
26	15,412	44,838	90,000			23696,455	0,192	1821,216
27	15,749	5,920	90,000			11934,976	0,097	2108,487

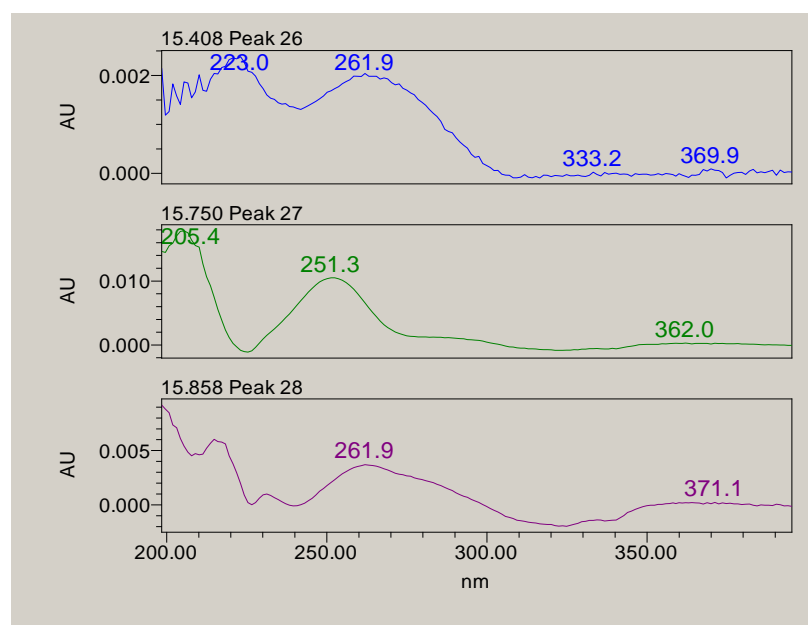
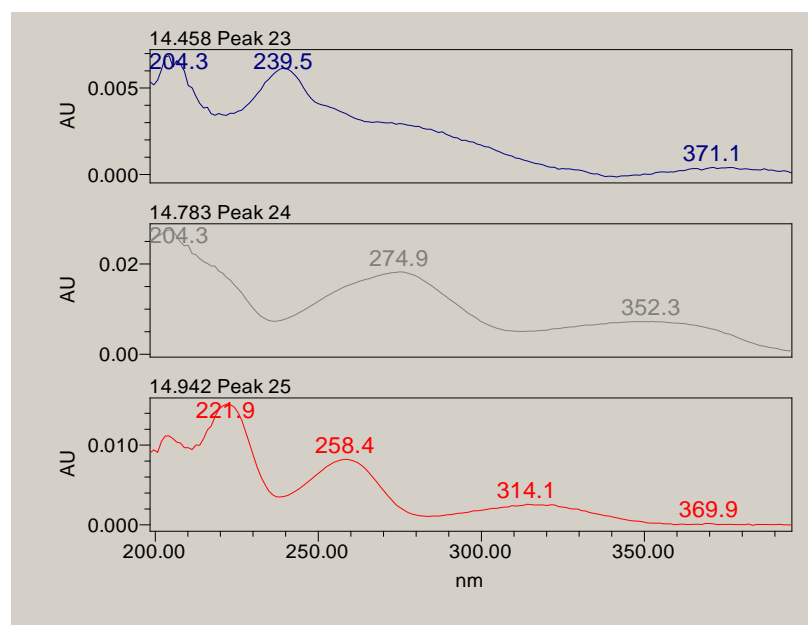
28	15,859	26,89 9	90,000			15436,113	0,125	2950,216
29	16,477	11,80 5	90,000			92948,338	0,752	8292,658
30	16,843	14,89 2	15,924	Cumaric Acid peak1 200ng	5,244	251133,34 9	2,033	24795,226
31	17,079	6,522	40,414			73429,434	0,594	9749,276
32	17,267	7,526	90,000	Cumaric Acid peak1 200ng	4,478	39107,558	0,317	4448,005
33	17,729	30,08 4	90,000			31768,781	0,257	2319,365
34	18,105	8,163	90,000			19530,685	0,158	3120,738
35	19,141	6,749	90,000			16418,566	0,133	2885,871
36	19,368	30,02 4	90,000			35722,448	0,289	4001,625
37	19,723	13,03 2	90,000			59173,466	0,479	7677,635
38	20,057	35,98 5	90,000			39765,236	0,322	4249,643
39	20,176	11,65 3	90,000	Ellagitannin, roldor, 20.2min	8,962	14184,845	0,115	2840,113
40	20,634	6,707	90,000			42364,329	0,343	6285,765
41	21,080	6,195	15,924			627645,51 6	5,081	63786,871
42	21,493	2,219	44,876			94930,818	0,768	15289,834
43	21,647	1,108	4,459			767668,27 2	6,214	112805,25 7
44	22,004	13,43 4	90,000			60728,758	0,492	6120,782
45	22,145	6,855	90,000			23487,452	0,190	3652,700
46	22,470	11,14 0	45,052	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	8,773	205627,02 8	1,664	21993,217
47	22,681	5,478	90,000			42247,555	0,342	6721,134
48	22,781	6,410	85,586			52007,848	0,421	7163,865
49	22,933	10,11 1	90,000	Oak component, 33.4min	8,729	28671,497	0,232	4293,407
50	23,143	15,76 7	90,000			85195,988	0,690	10270,896
51	23,304	7,086	90,000			69925,363	0,566	8515,322
52	23,489	8,021	35,162			102585,86 5	0,830	14208,959
53	23,629	9,468	25,945			184647,57 8	1,495	20804,513
54	24,040	7,700	90,000			41273,314	0,334	3711,899
55	24,284	27,25 3	90,000			82426,195	0,667	8482,796
56	24,577	11,12 9	90,000			16762,845	0,136	2393,514
57	24,926	14,07 4	3,172			2636613,3 63	21,34 2	297011,75 2
58	25,698	24,55 7	90,000			18329,944	0,148	2540,496
59	25,843	17,21 1	90,000			30106,586	0,244	3797,821

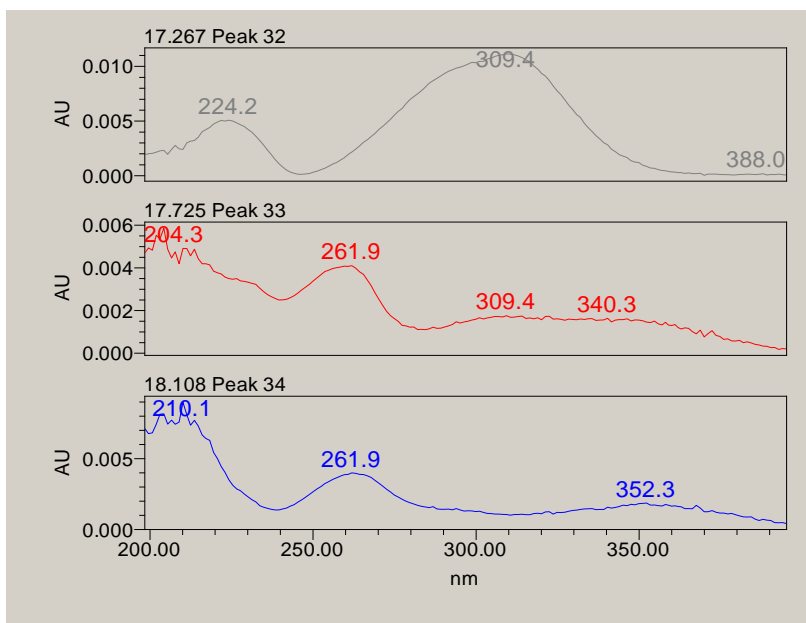
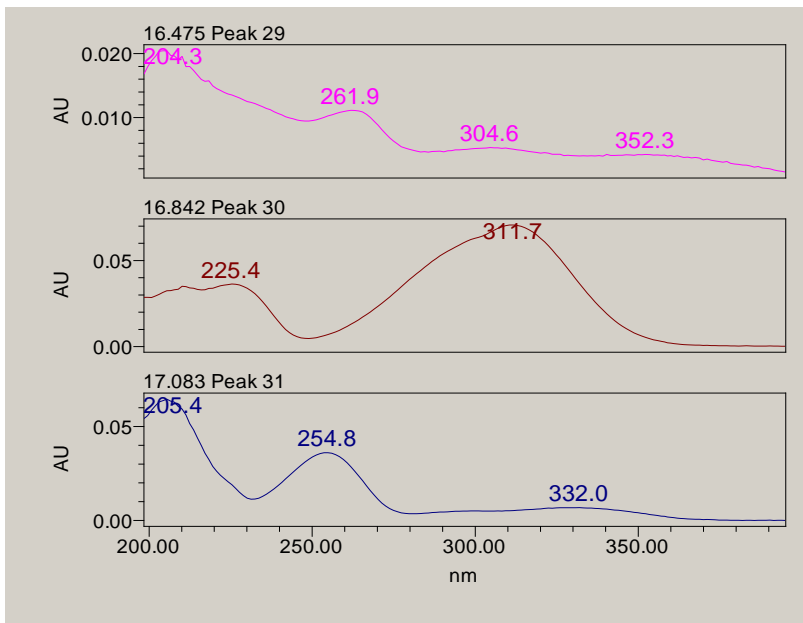
60	26,228	26,357	90,000			11606,719	0,094	2173,316
61	26,769	6,427	90,000			16316,075	0,132	2783,015
62	26,887	7,773	90,000	Tanino catequico restos poda 20C_1h, 29.48min, 101219	5,069	23925,502	0,194	3444,808
63	27,599	8,182	28,744			339272,387	2,746	40918,308
64	27,864	4,606	90,000			45618,701	0,369	6850,597
65	27,988	7,376	90,000			88089,541	0,713	11965,397
66	28,622	1,509	73,633			167797,277	1,358	23086,839
67	32,881	4,998	90,000			34744,330	0,281	4304,145

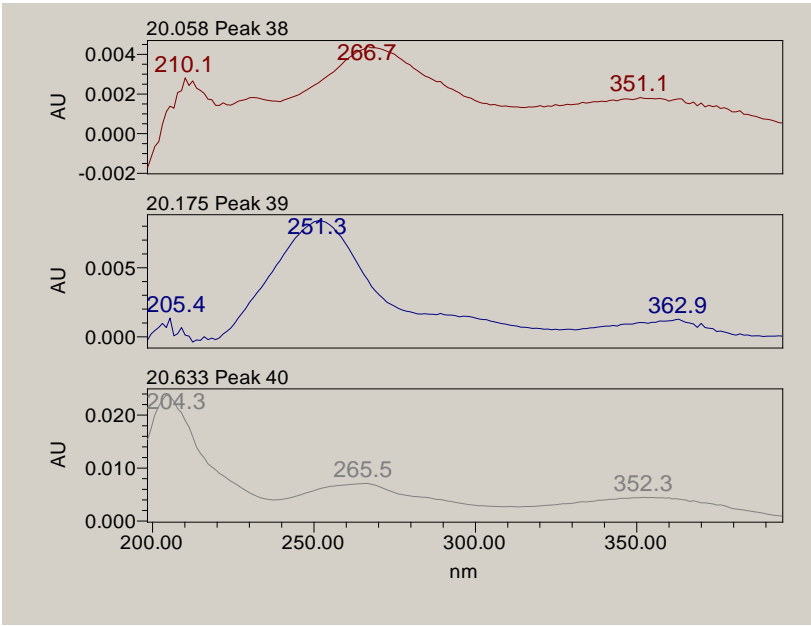
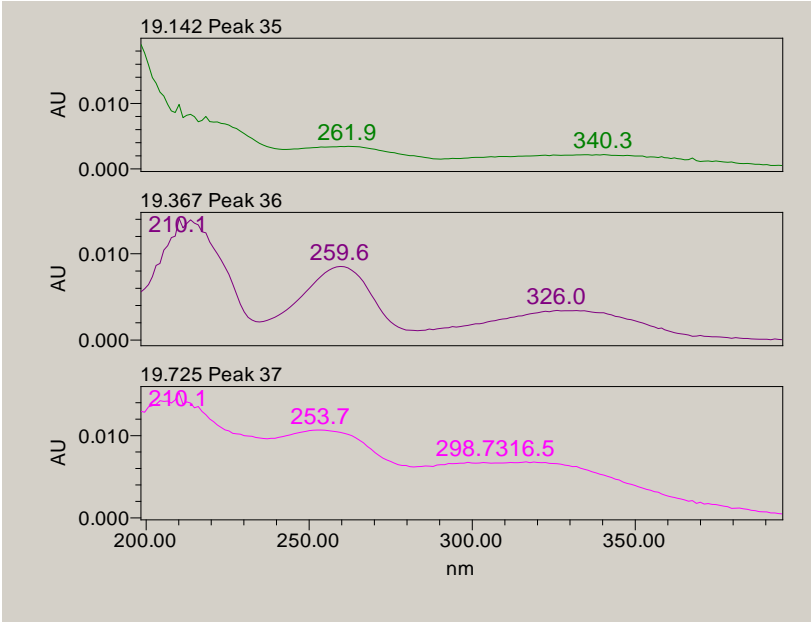




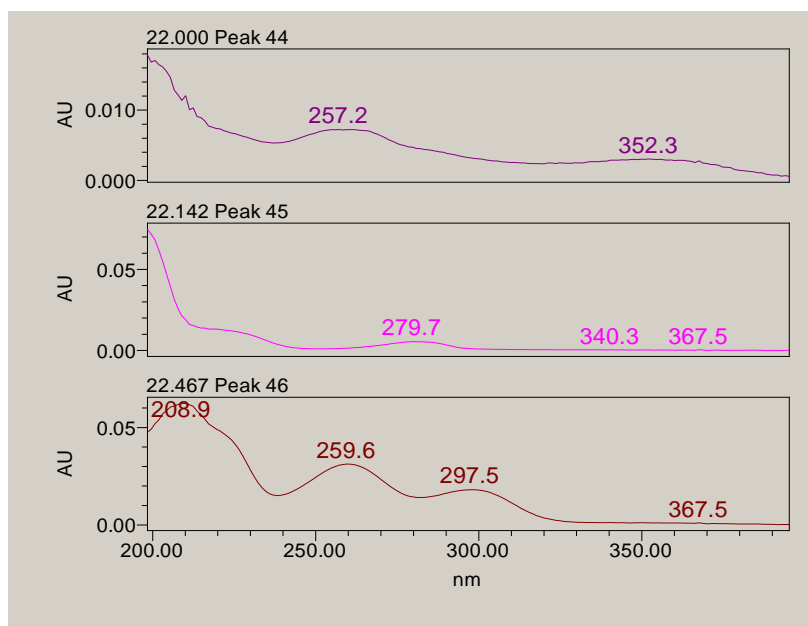
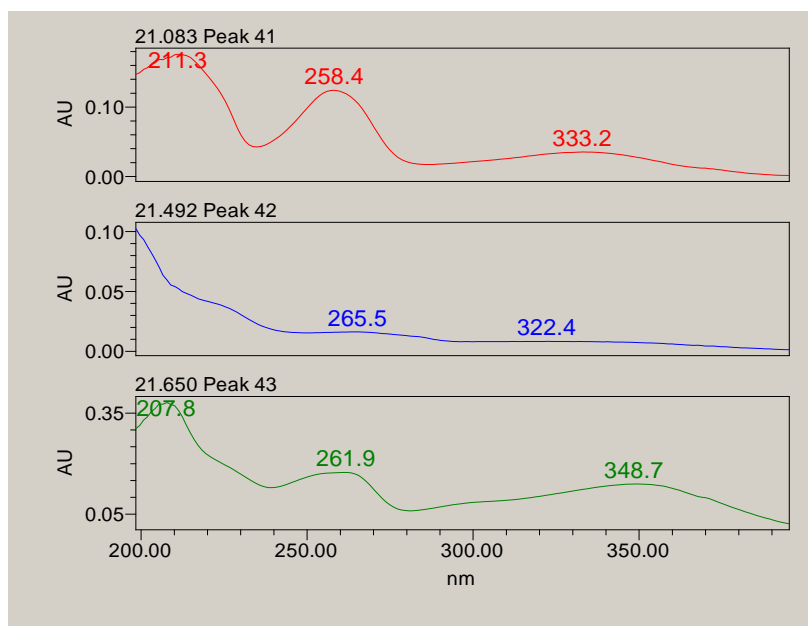


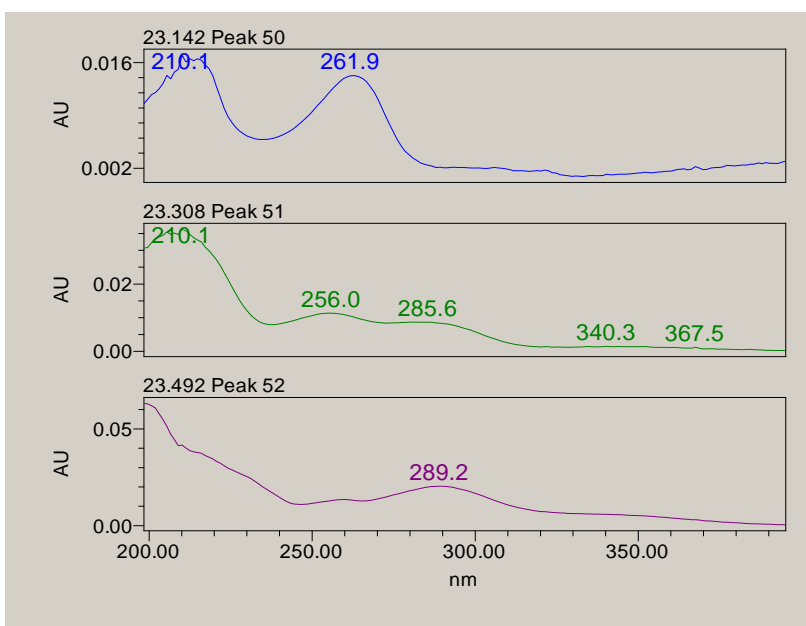
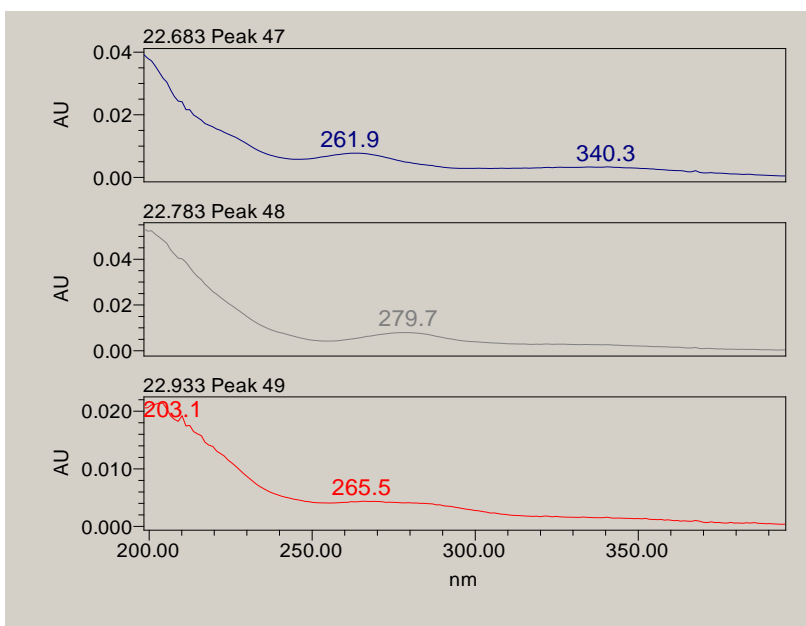


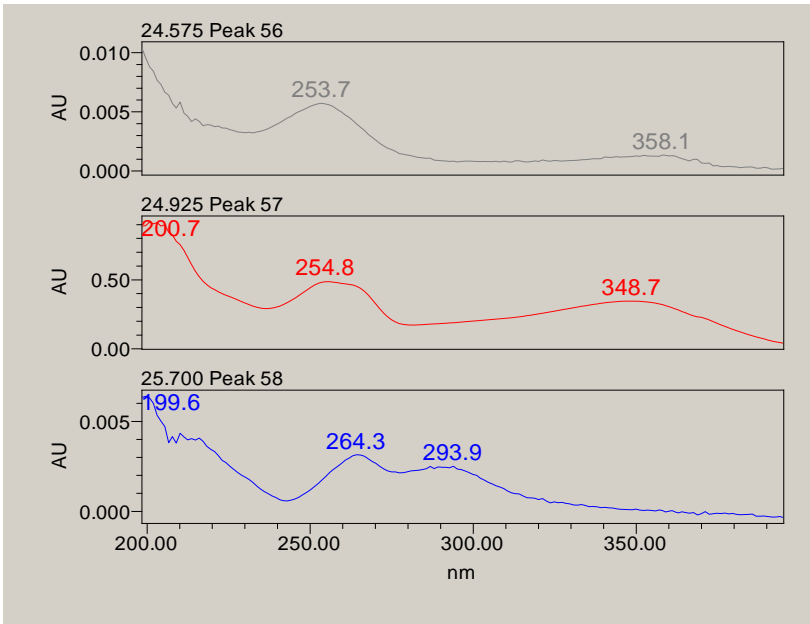
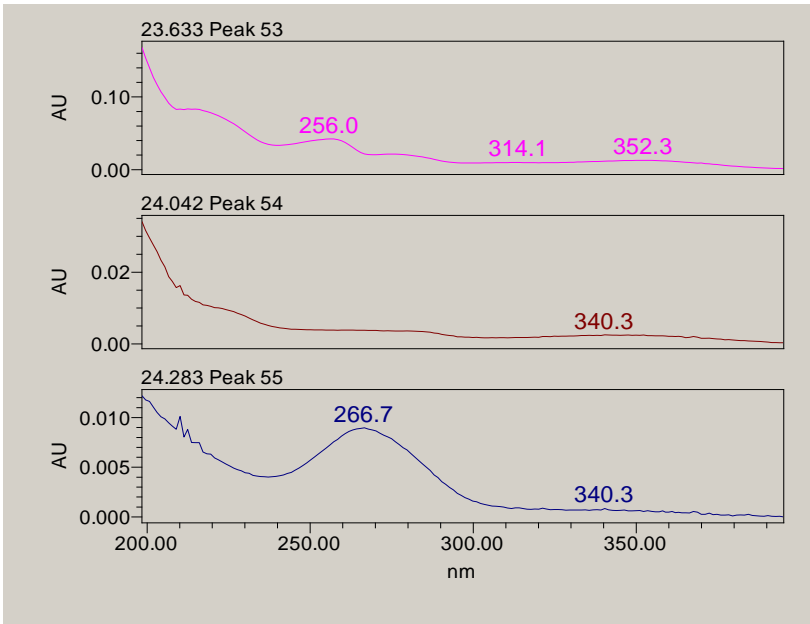


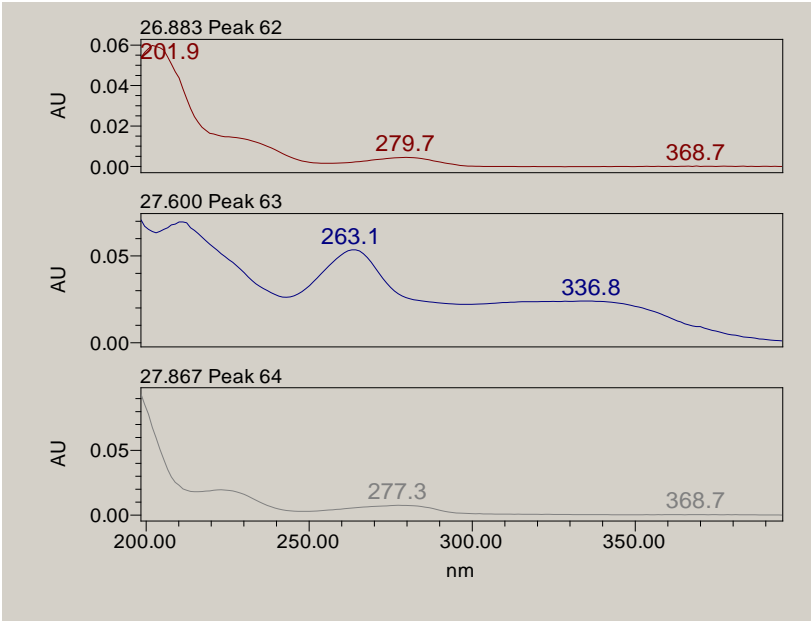
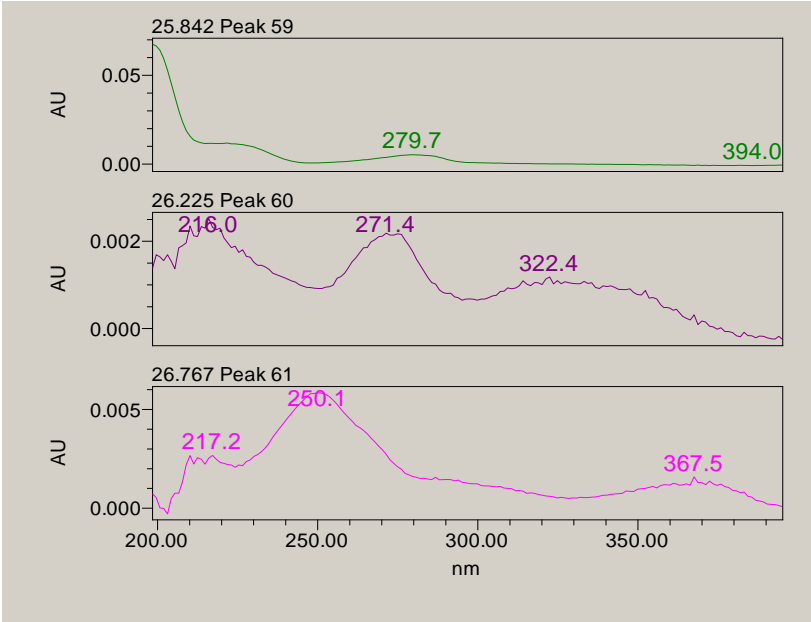


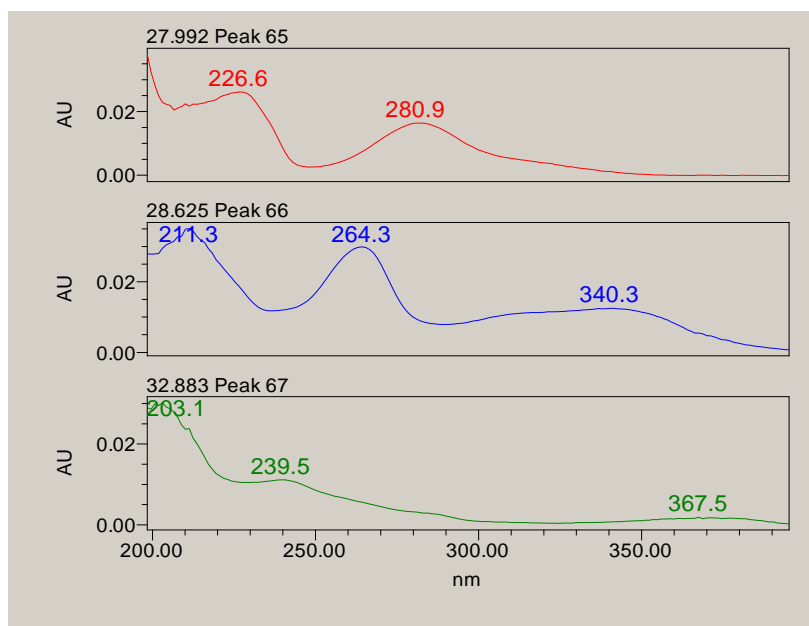












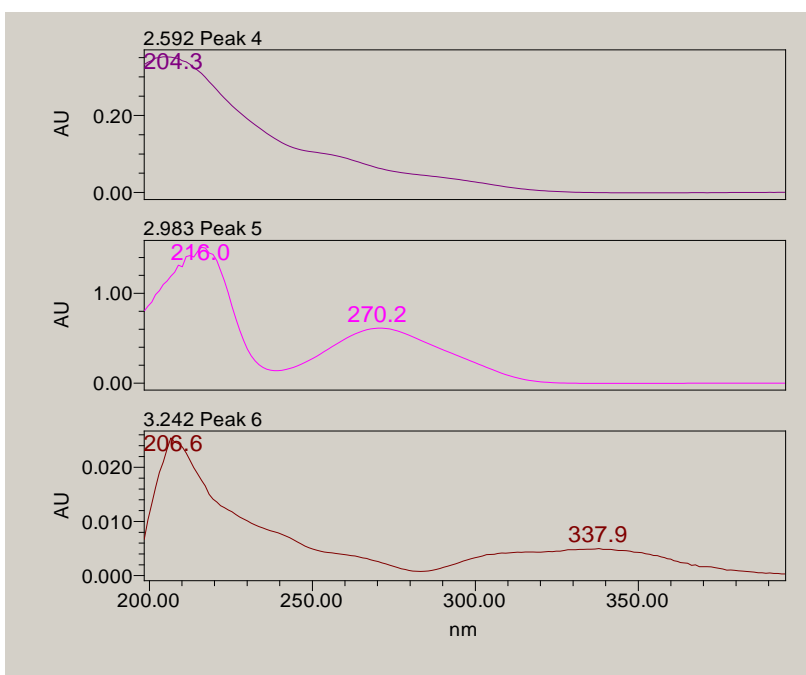
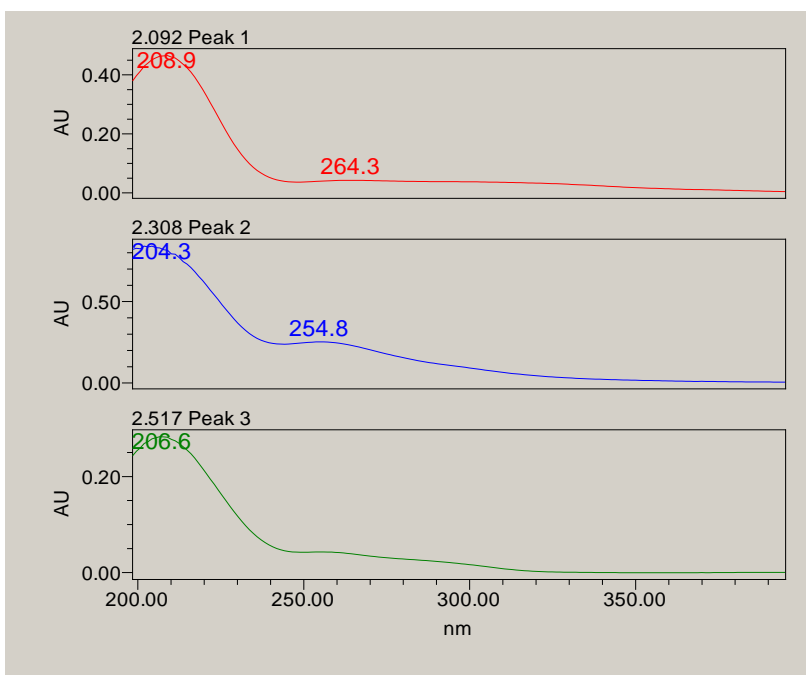
N2 100 µm

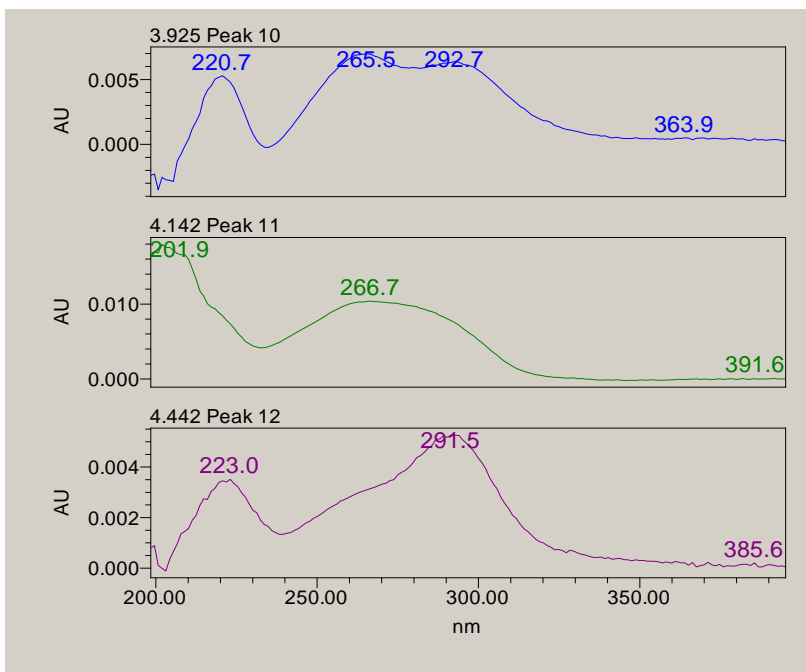
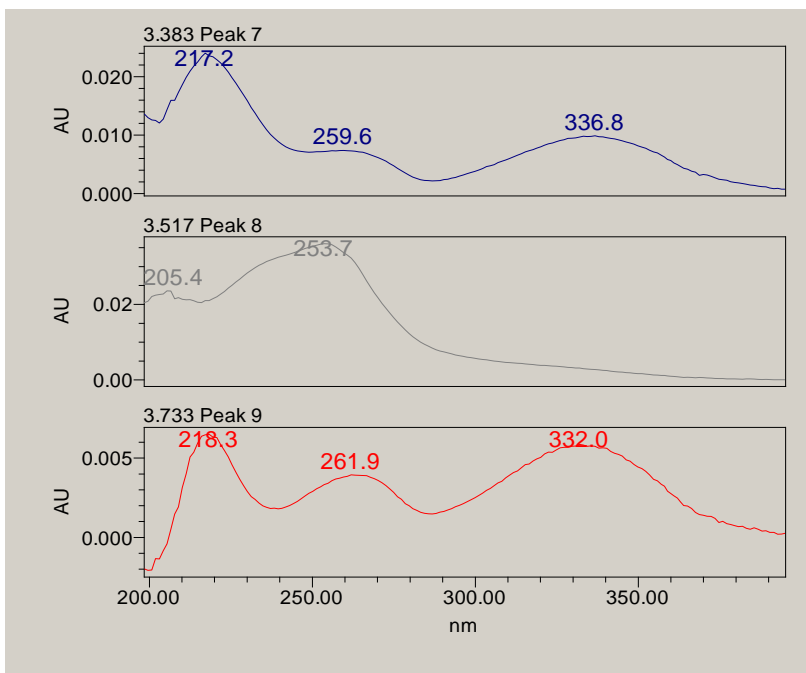
	Retention Time	Purity 1 Angle	Purity1 Threshold	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,091	8,910	9,681			367722,897	2,100	41801,920
2	2,310	11,318	5,199			1114705,828	6,365	198140,108
3	2,515	5,955	12,285			199965,244	1,142	33573,386
4	2,591	13,051	11,912			505973,961	2,889	61626,719
5	2,981	3,638	4,748	Gallic Acid 200ng, 3.2min	2,890	3000638,617	17,135	613933,362
6	3,239	10,579	90,000			12892,497	0,074	2430,154
7	3,385					28011,562	0,160	5923,432
8	3,514	25,337	90,000			143280,140	0,818	20680,042
9	3,735	12,579	90,000			16516,172	0,094	3486,138
10	3,927	20,527	90,000			40372,236	0,231	6435,499
11	4,140	24,045	90,000			75876,679	0,433	10225,525
12	4,439	10,357	90,000			30480,535	0,174	3353,482
13	4,626	21,113	90,000			18451,434	0,105	2552,706
14	4,866	14,720	90,000			83126,553	0,475	7619,581
15	5,157	1,552	16,322	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	1,067	757370,403	4,325	112717,911
16	6,581	13,342	90,000			40148,686	0,229	5143,237
17	6,835	6,497	90,000			8535,739	0,049	1506,724
18	7,286	38,433	90,000			33444,905	0,191	3246,213
19	7,828	10,603	90,000			122058,091	0,697	8774,429
20	8,572	35,593	90,000			114399,390	0,653	9576,850
21	8,800	10,775	90,000			105693,363	0,604	5759,481
22	11,077	11,659	90,000	Gallotannin, chestnut, 15.2min	5,453	84680,851	0,484	9063,040
23	11,346	0,973	10,355	Cumaric Acid peak1 200ng	3,052	659816,316	3,768	71832,083
24	11,923	23,869	90,000	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	5,503	114337,686	0,653	7785,075
25	12,319	17,882	90,000			39031,891	0,223	3291,801

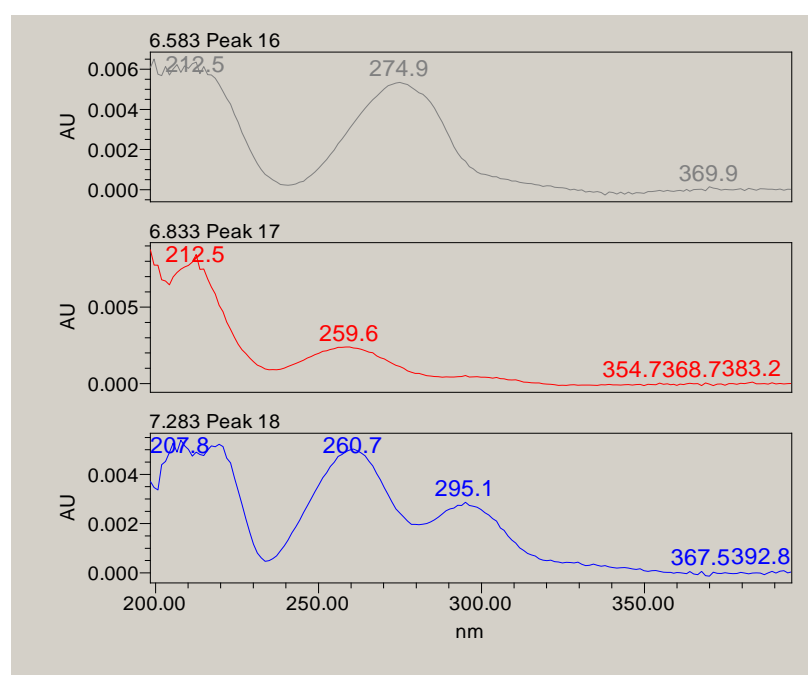
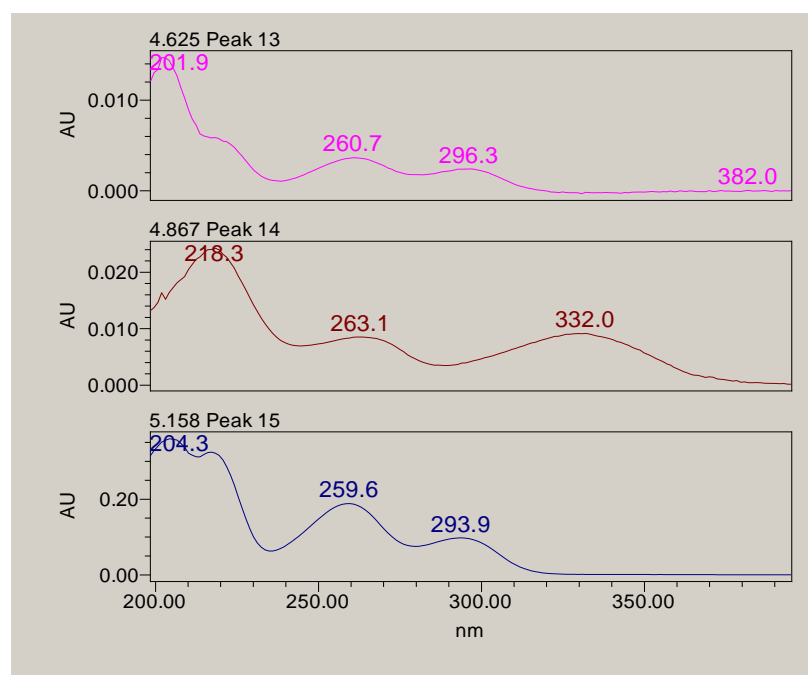
26	12,757	7,612	90,000			123177,190	0,703	12413,778
27	13,578	14,060	90,000			20714,285	0,118	3125,752
28	13,811	7,759	90,000	Gallotannin, sumac, 11.5min	7,582	113221,602	0,647	15138,605
29	13,999	16,537	90,000			24887,401	0,142	3800,051
30	14,557	12,158	90,000			113144,887	0,646	14346,586
31	14,776	4,542	90,000			24941,194	0,142	3558,308
32	15,570	3,046	90,000			16809,835	0,096	3464,709
33	15,666	14,590	90,000			40093,222	0,229	5597,609
34	15,783	5,640	90,000			10758,636	0,061	2205,525
35	15,941	7,764	90,000			9583,996	0,055	1737,461
36	16,289	7,564	90,000			89008,425	0,508	9517,646
37	16,636	8,742	15,080	Cumaric Acid peak1 200ng	6,968	367524,494	2,099	43917,550
38	16,911	7,083	64,167			84735,832	0,484	10728,214
39	17,066	12,640	90,000	Cumaric Acid peak1 200ng	6,349	72338,135	0,413	8654,692
40	17,468	9,260	90,000			57184,960	0,327	5660,587
41	17,745	6,276	90,000			13819,254	0,079	2113,081
42	17,923	7,918	90,000			32244,163	0,184	4811,986
43	18,542	12,115	90,000			88475,586	0,505	4668,065
44	18,941	10,103	90,000			25371,096	0,145	3042,401
45	19,199	18,475	90,000			69333,832	0,396	7644,386
46	19,529	6,098	90,000			70851,962	0,405	9611,919
47	19,704	7,148	90,000			23702,541	0,135	3797,565
48	19,851	12,835	90,000			67547,269	0,386	8047,447
49	19,963					22548,735	0,129	4515,703
50	20,064	9,395	90,000			21307,143	0,122	3527,070
51	20,426	20,673	90,000			103949,470	0,594	10618,866
52	20,866	9,425	21,586			798061,248	4,557	75847,549
53	21,422	2,555	5,746			1190366,244	6,797	158400,512
54	21,791	16,329	90,000			19861,899	0,113	3205,340
55	21,954	7,299	90,000			5999,774	0,034	1370,005
56	22,167	3,306	28,879	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	9,603	476518,537	2,721	58024,639
57	22,467	33,032	90,000			76159,347	0,435	7967,804
58	22,783	23,226	90,000			159655,847	0,912	18084,333

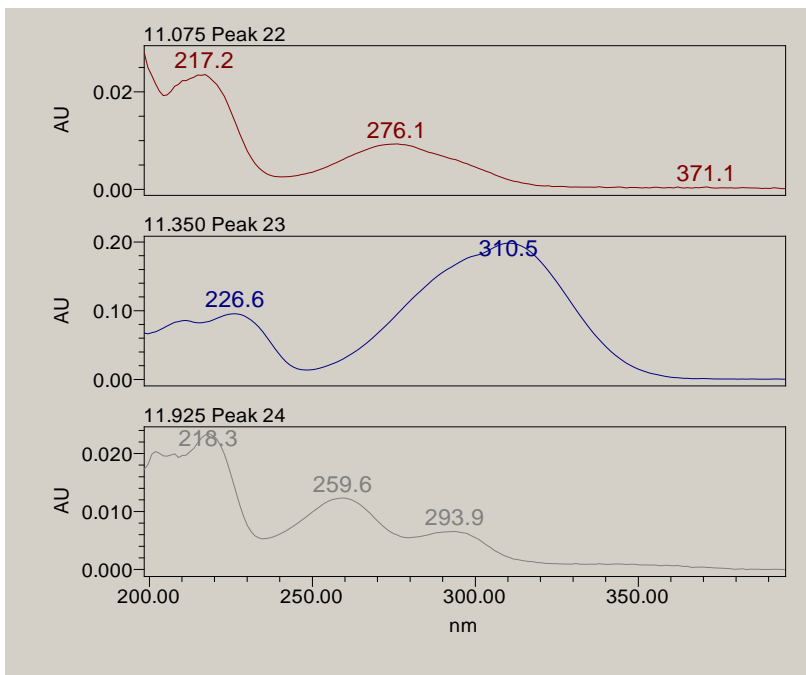
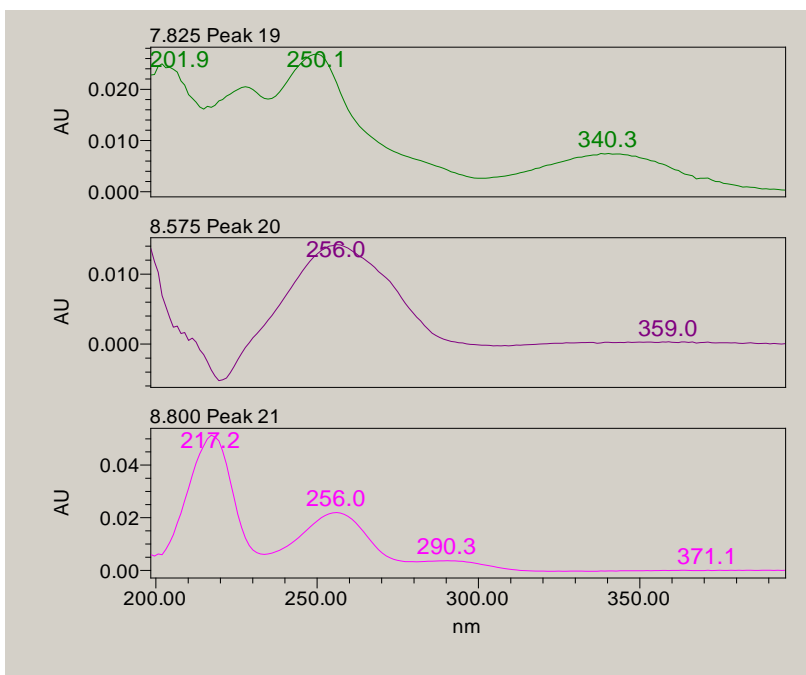
59	23,084	10,54 2	90,000			74017,835	0,423	8858,499
60	23,250	8,730	30,174			181649,301	1,037	23253,202
61	23,386	17,54 5	48,330			190999,568	1,091	23105,060
62	23,611	8,985	90,000			8007,648	0,046	1434,321
63	23,816	9,377	90,000			38708,848	0,221	4178,265
64	24,061	41,50 5	90,000			93953,131	0,537	9860,749
65	24,344	27,76 7	90,000			11125,320	0,064	1741,863
66	24,700	10,48 4	3,030			3453064,52 1	19,718	416134,51 6
67	25,492	12,96 5	90,000			41756,578	0,238	5288,672
68	25,652	13,28 9	90,000	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 19.29min, 101219	6,108	27942,390	0,160	4123,626
69	25,815	4,202	76,036			21931,698	0,125	3031,570
70	25,994	18,35 2	90,000			26260,028	0,150	4287,065
71	26,546	6,782	90,000			46607,592	0,266	5872,393
72	26,711	6,298	90,000	Tanino catequónico restos poda 20C_1h, 29.48min, 101219	4,523	26873,114	0,153	3620,104
73	27,334	7,878	28,359			572630,272	3,270	60208,952
74	27,672					40738,043	0,233	8152,448
75	27,782	9,168	90,000			141930,375	0,810	18794,335
76	28,327	0,789	58,729			306172,513	1,748	41087,452
77	32,664	6,171	90,000			56085,039	0,320	6676,991

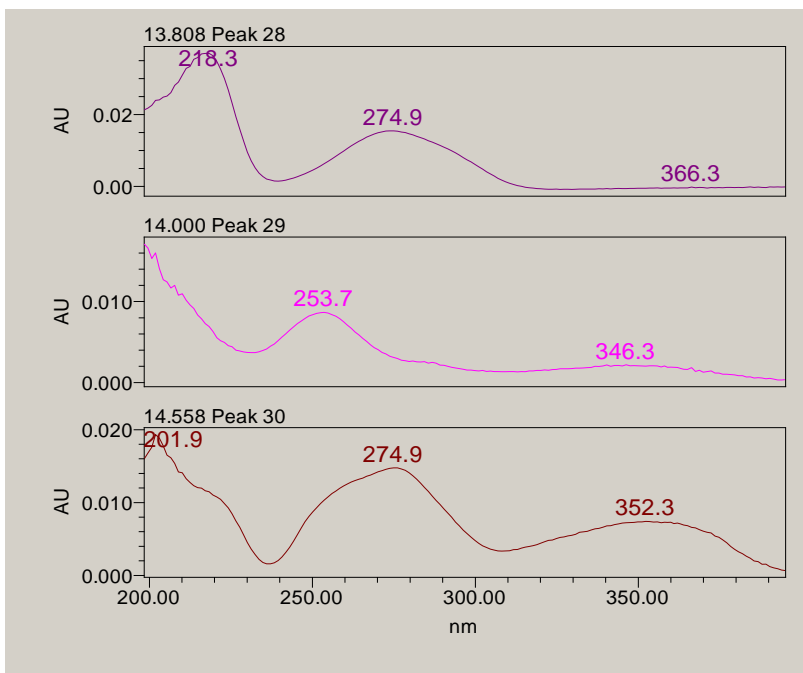
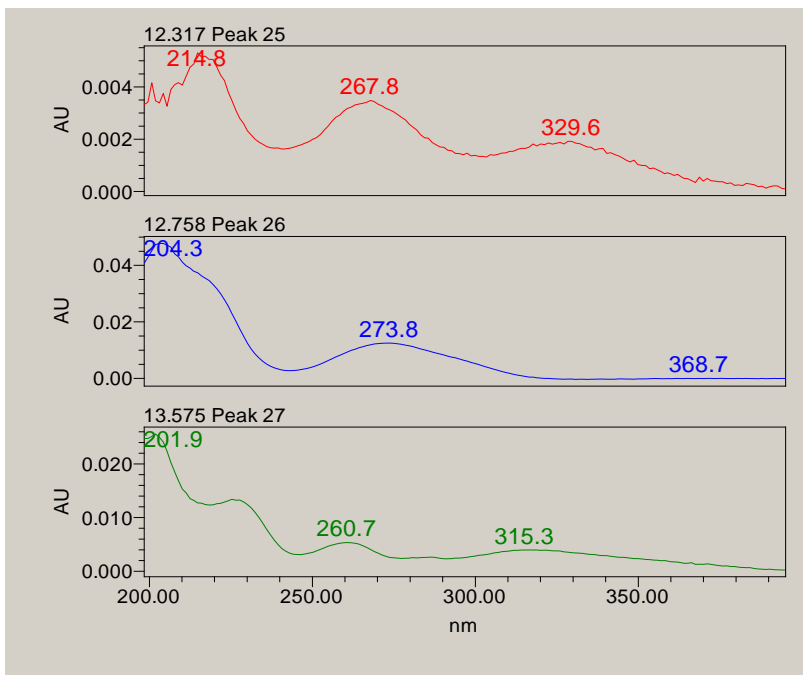


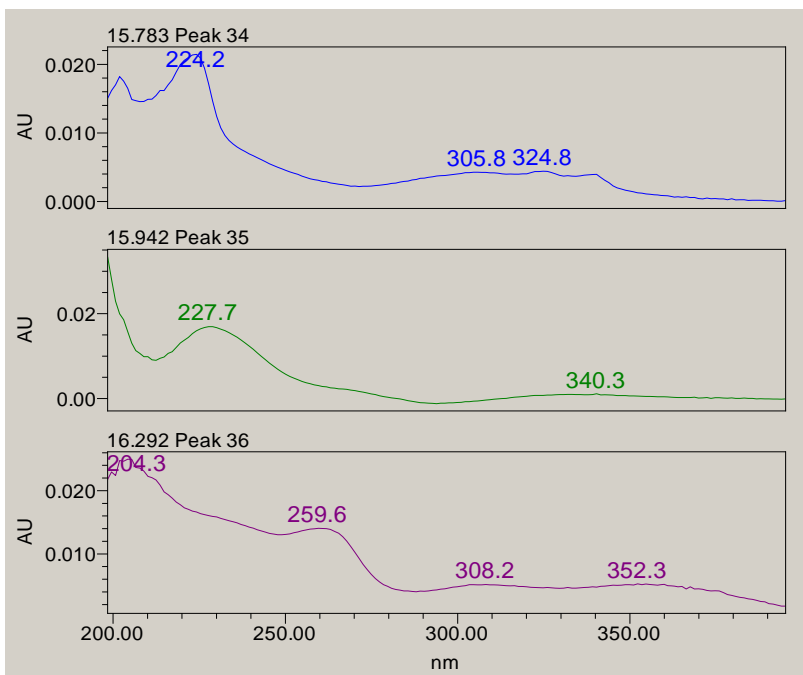
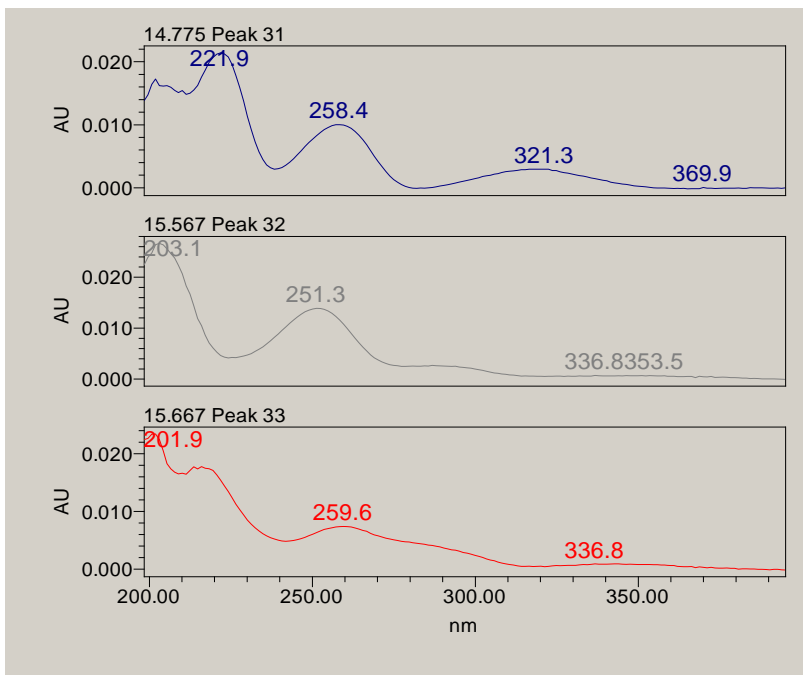


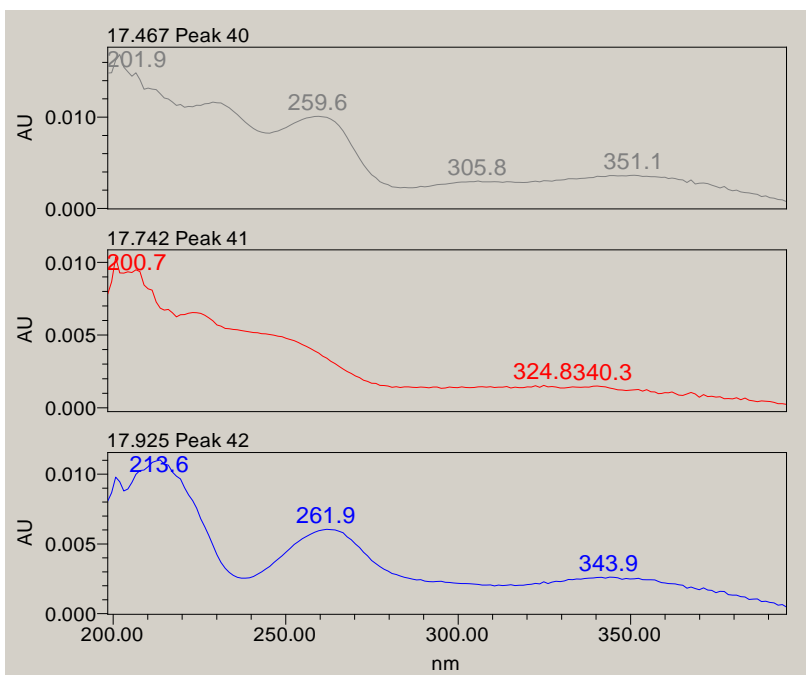
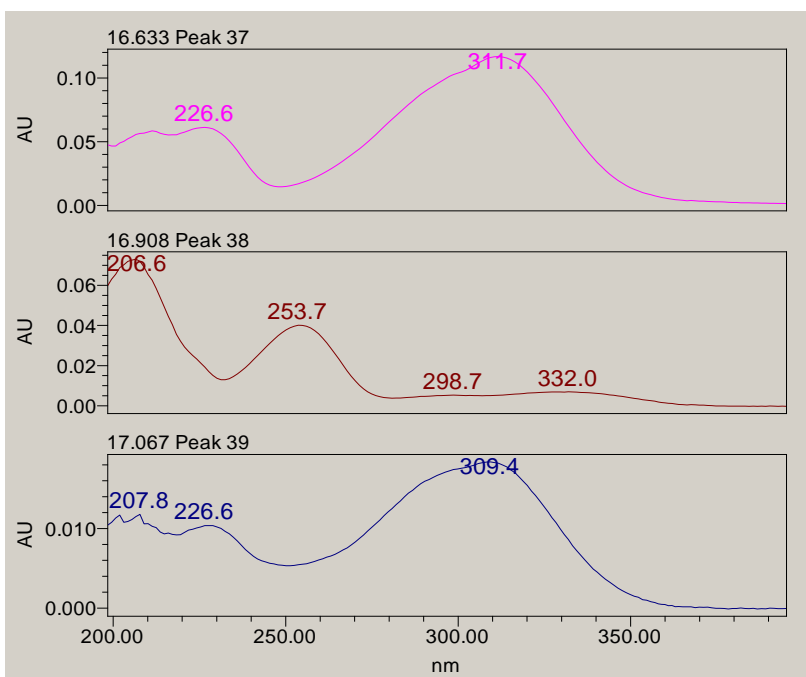


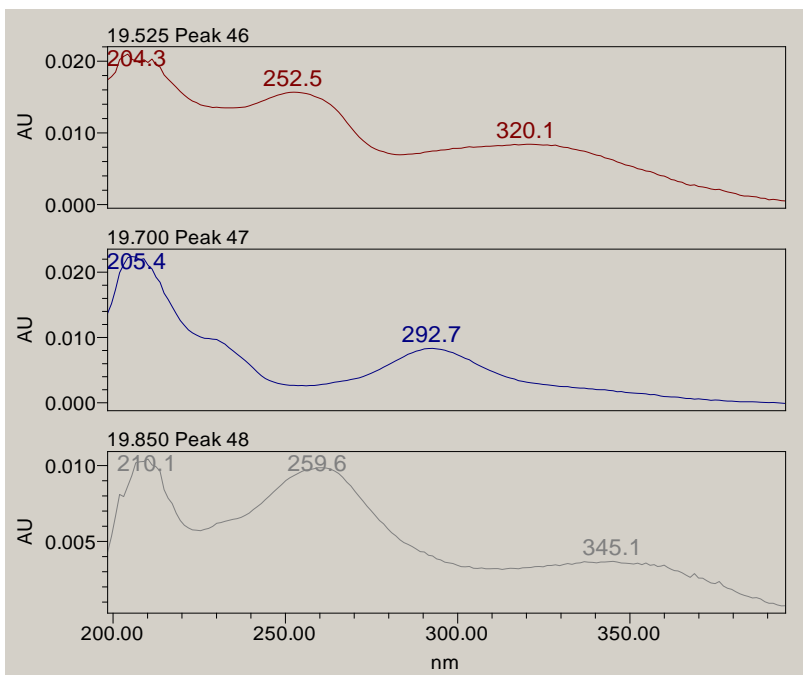
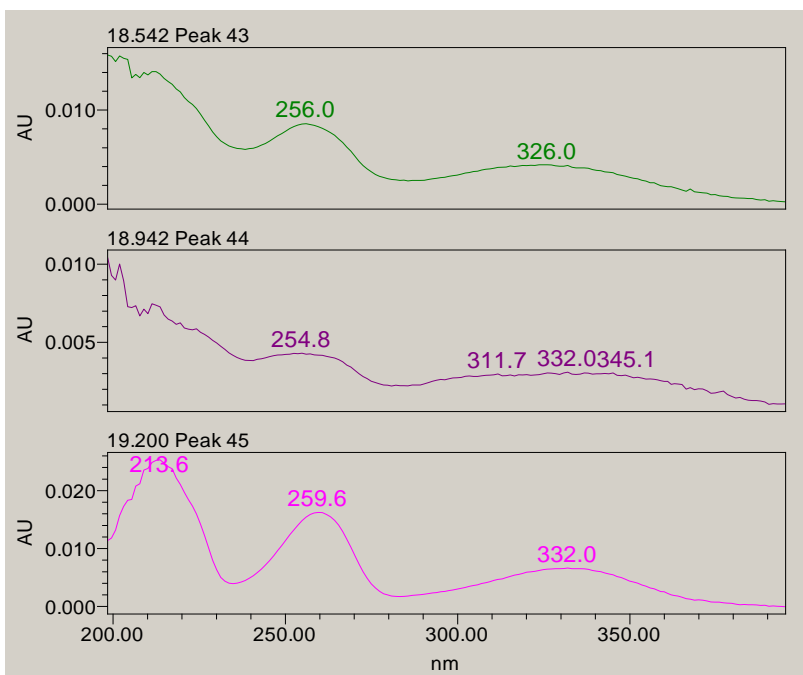




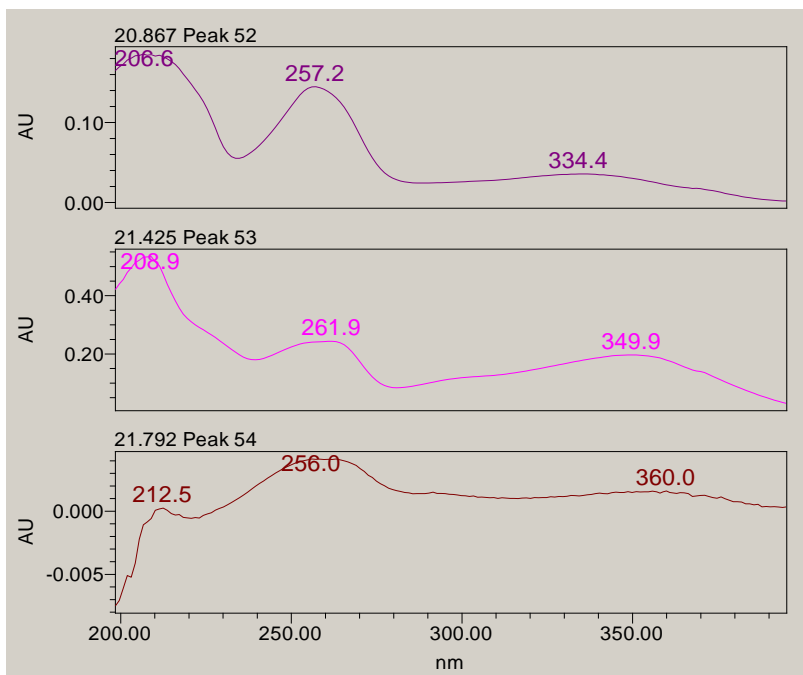
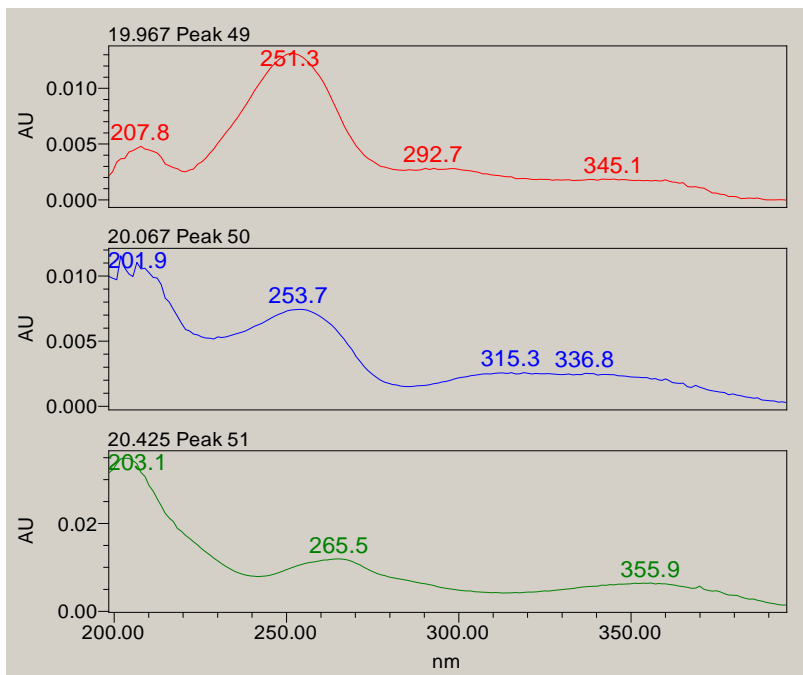


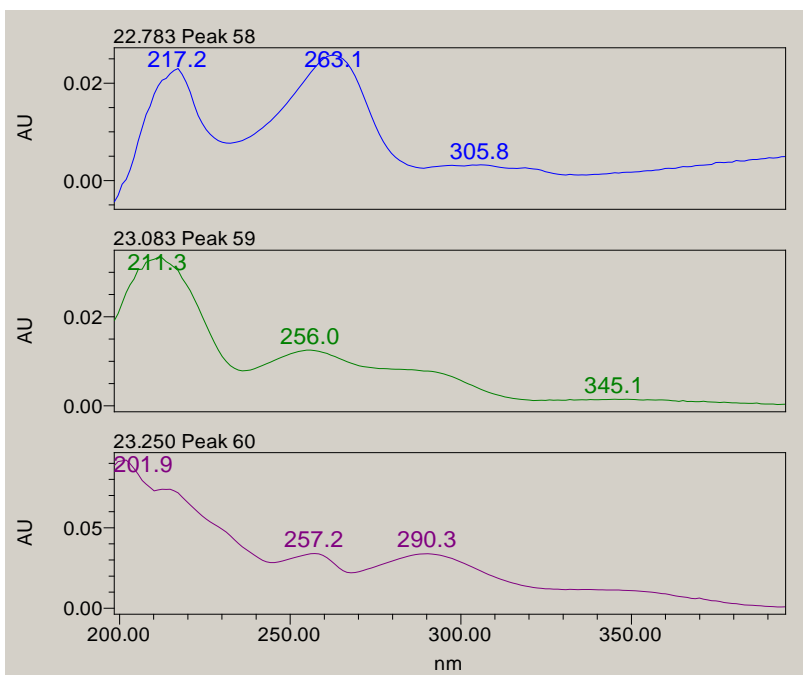
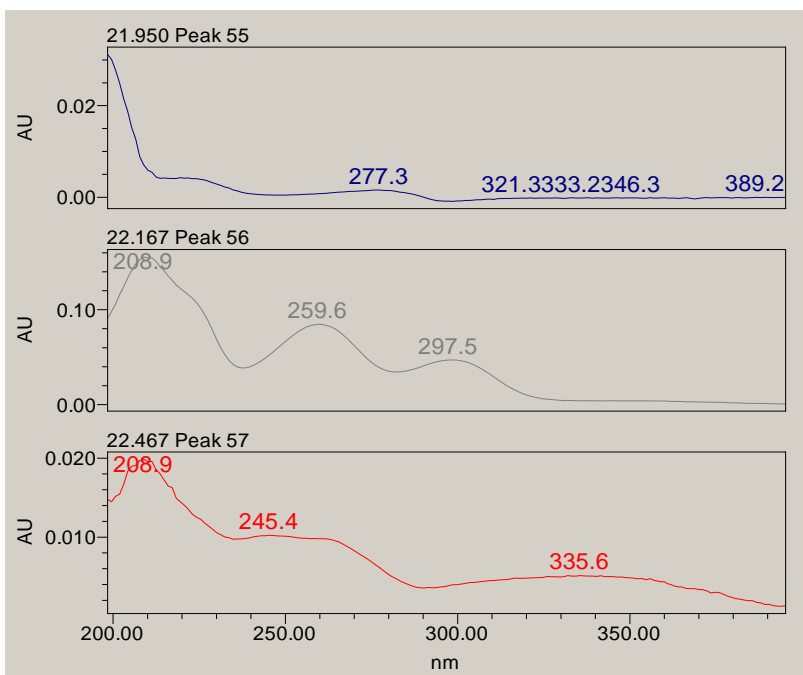


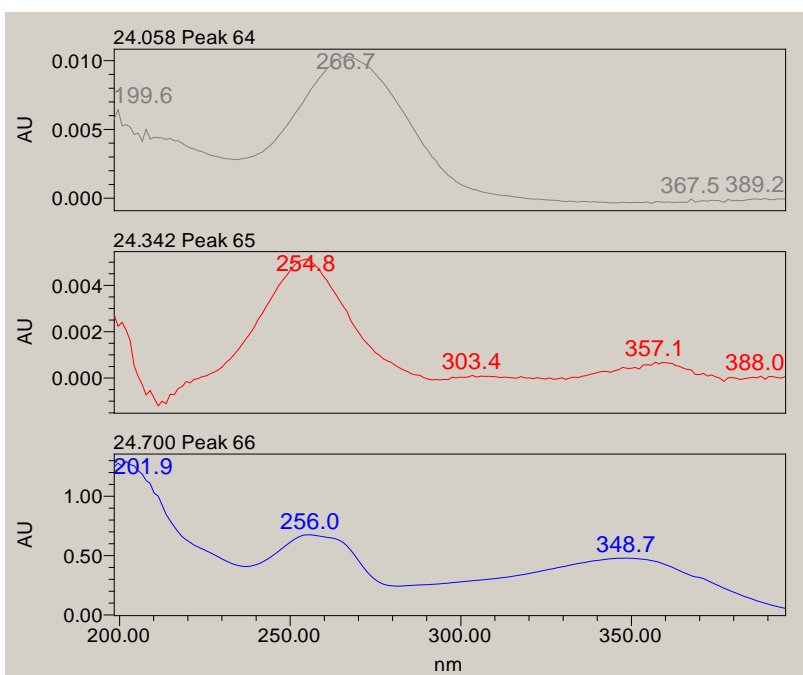
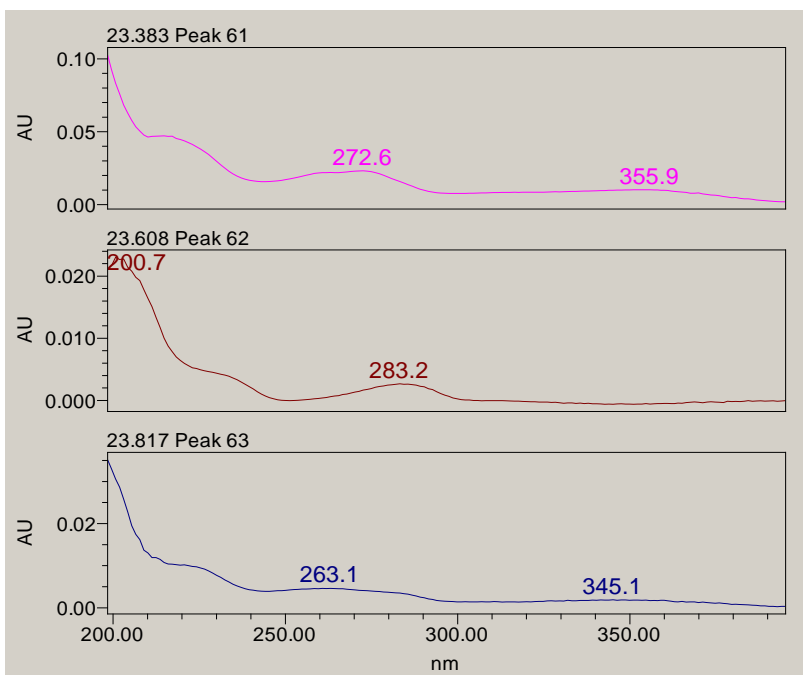


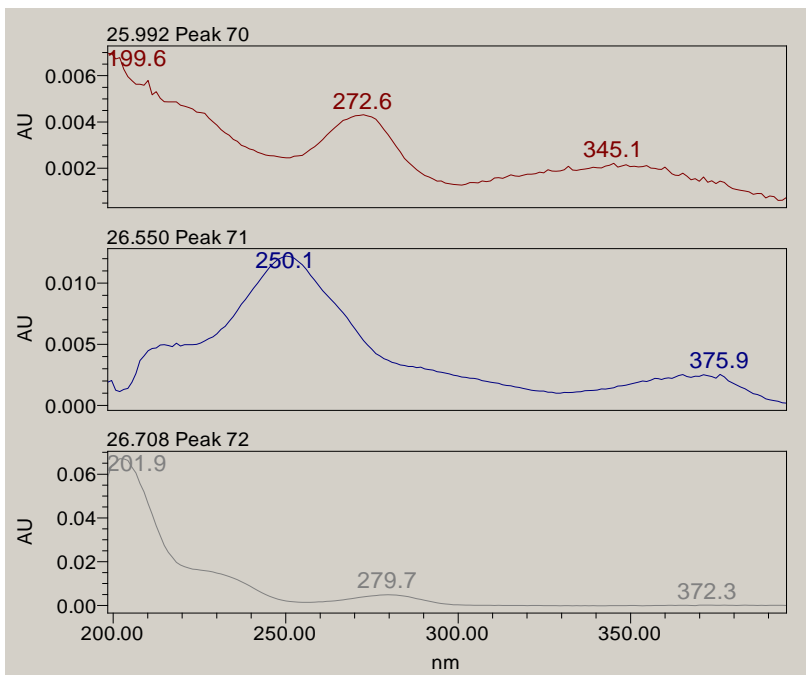
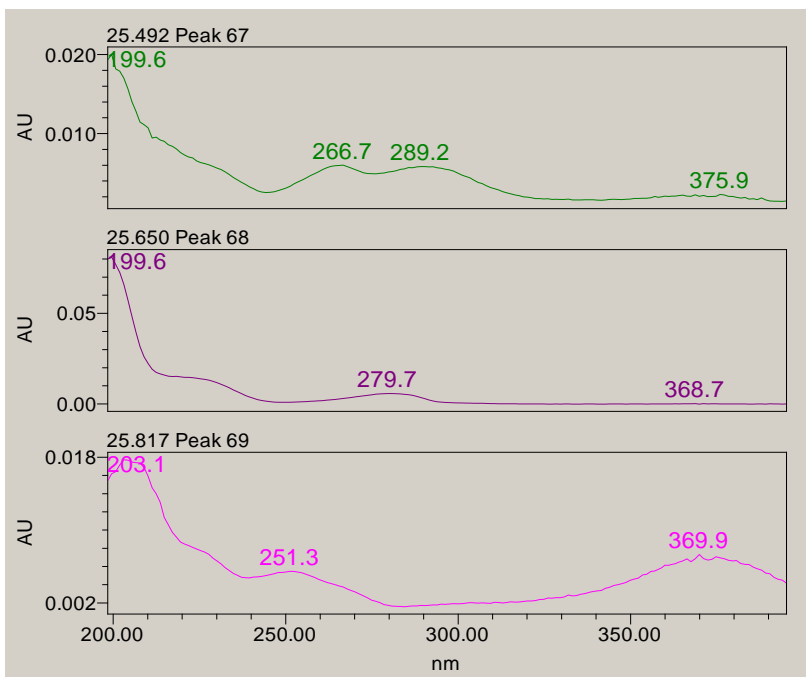


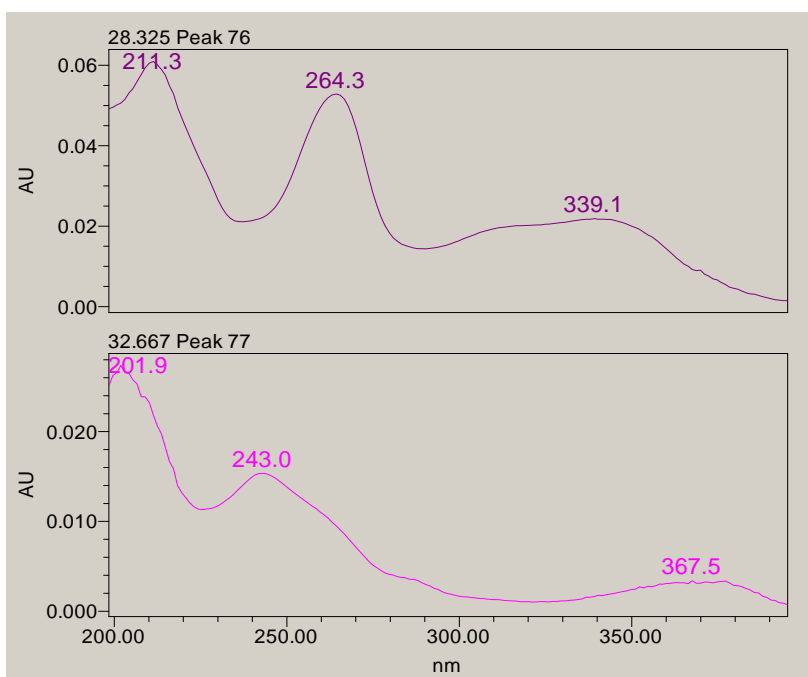
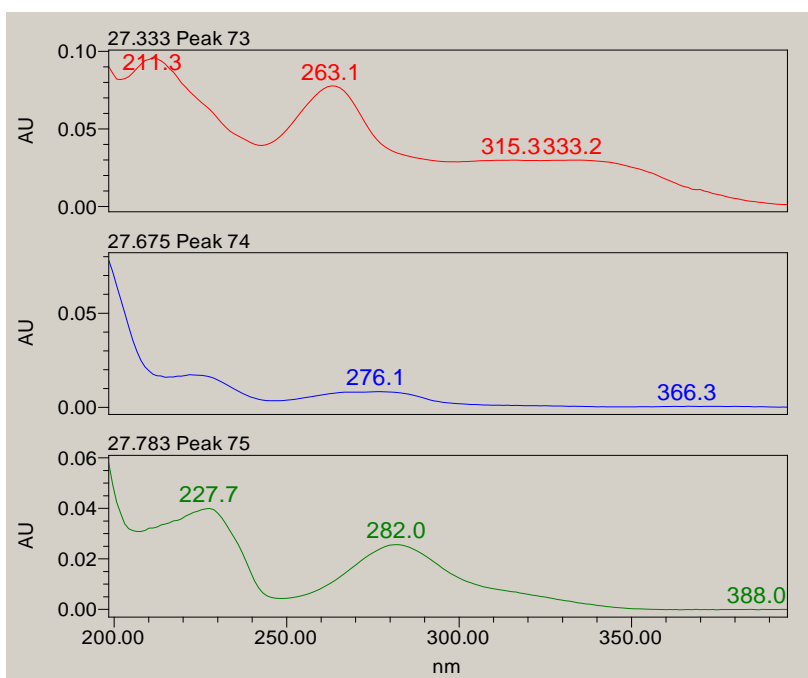








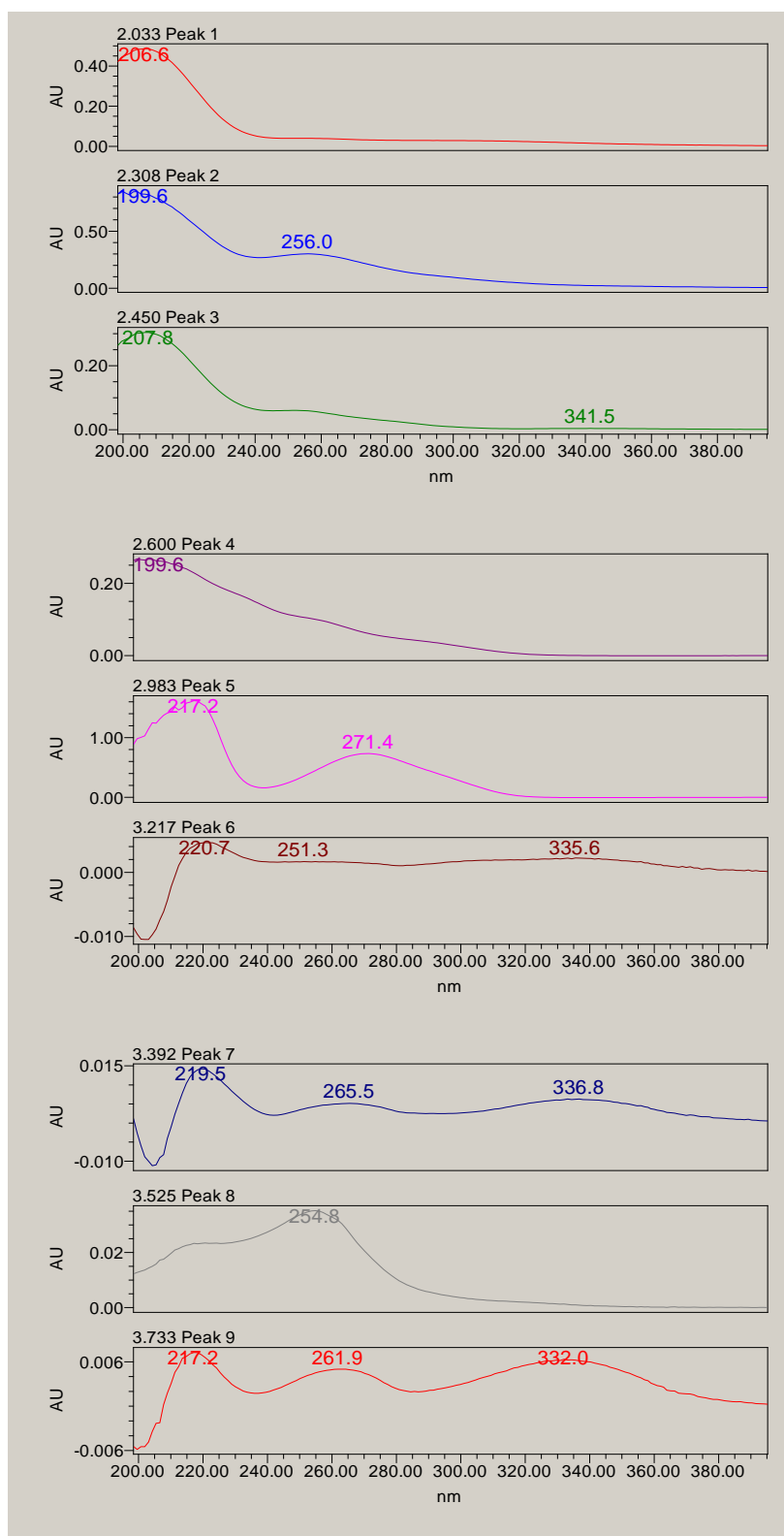




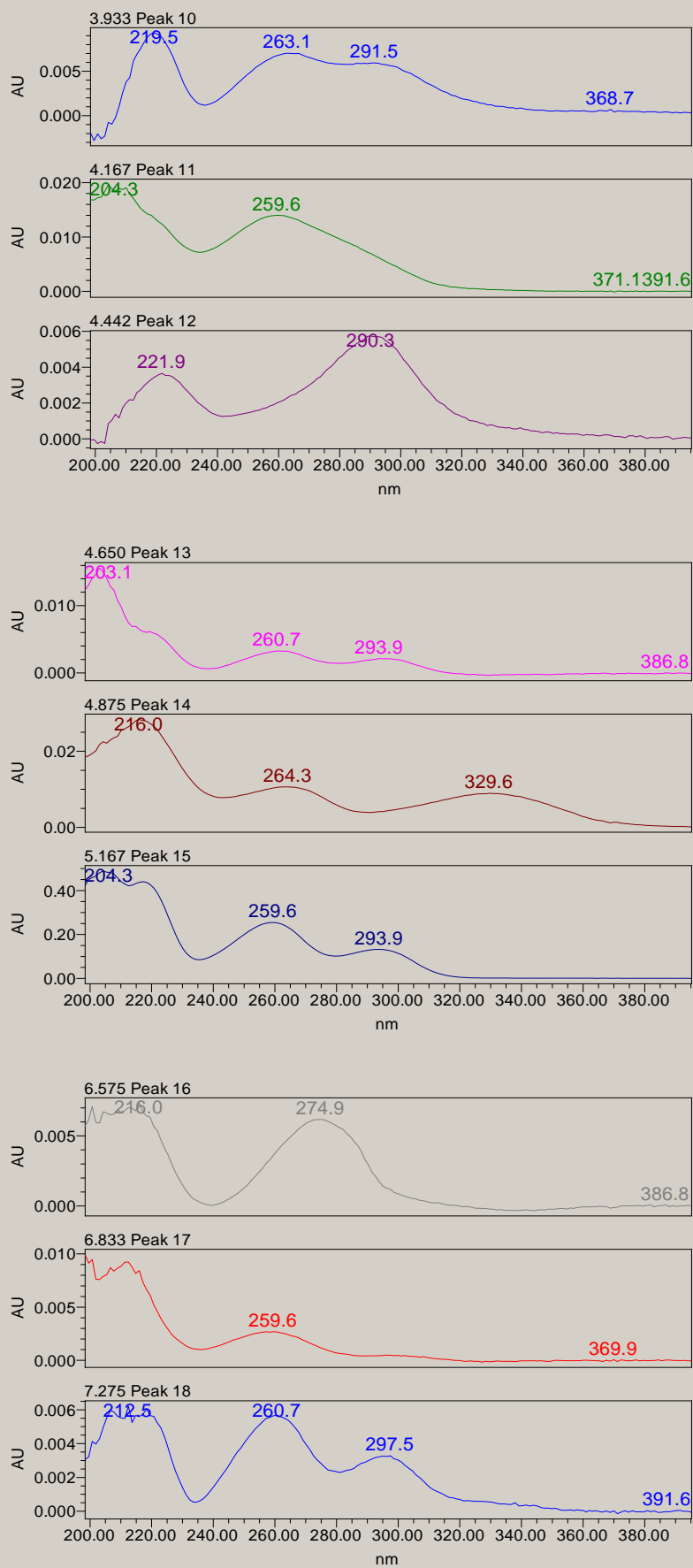
N2 50 µm

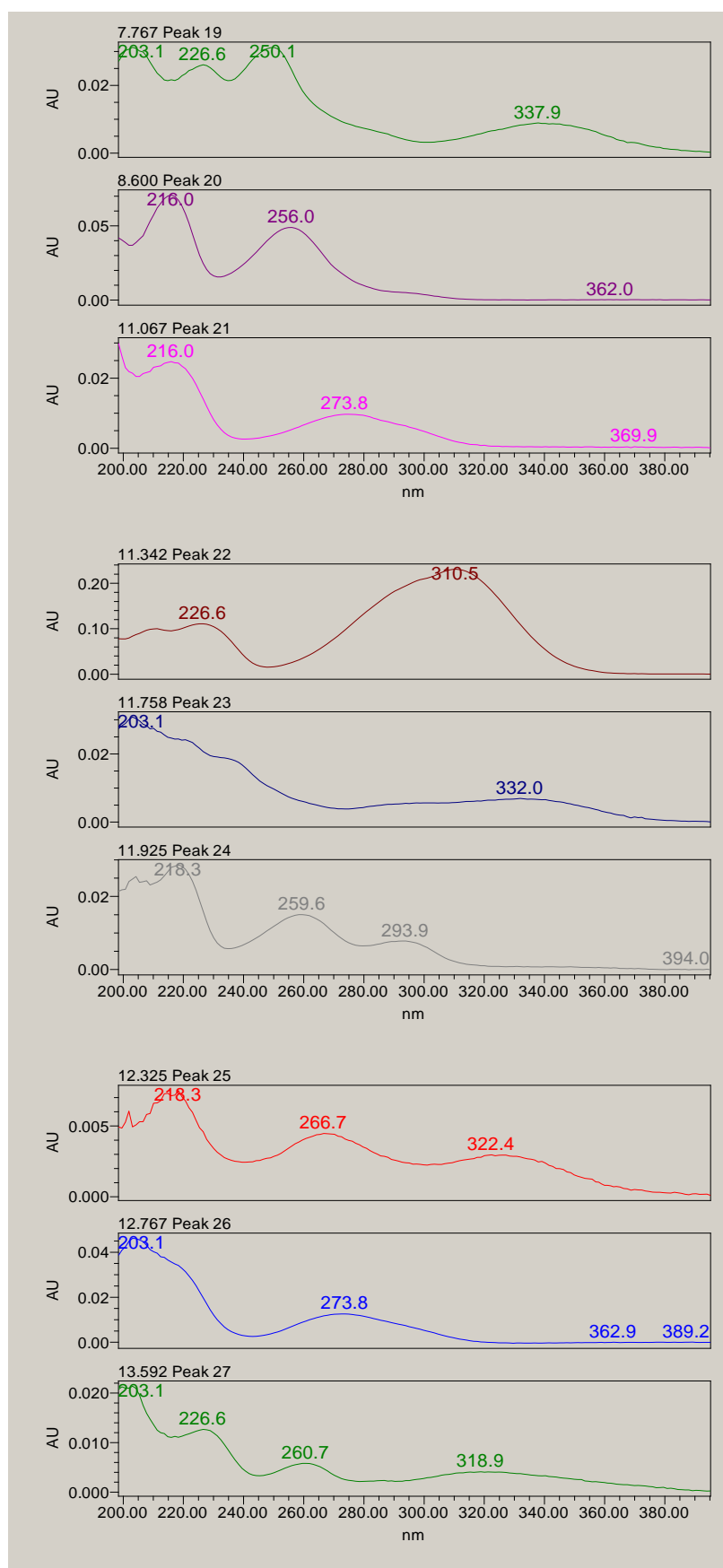
	Retent ion Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,034			311363,689	1,840	33210,030
2	2,309			1261999,171	7,459	230835,359
3	2,449			148449,056	0,877	37766,026
4	2,599	Pico en extracto de casta±o aprox. 15.5min	7,800	506100,271	2,991	61546,788
5	2,987	Acido gβlico 3.3- 3.6min	2,204	3567137,364	21,08 4	737171,184
6	3,215			5744,608	0,034	1430,939
7	3,392			20167,493	0,119	4777,012
8	3,527			121463,496	0,718	19371,595
9	3,735			21903,675	0,129	4308,862
10	3,929			43573,239	0,258	6463,147
11	4,163			83206,262	0,492	11900,940
12	4,442			28881,683	0,171	3130,779
13	4,648			14846,355	0,088	2213,740
14	4,875			87787,325	0,519	9589,009
15	5,169	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	1,042	1009785,133	5,969	152365,838
16	6,578			46597,433	0,275	6003,314
17	6,831			9287,805	0,055	1641,860
18	7,279			37707,574	0,223	3708,310
19	7,764			118082,120	0,698	10010,178
20	8,596			345230,760	2,041	20412,731
21	11,069	Gallotannin, chestnut, 15.2min	6,520	87775,542	0,519	9479,620
22	11,338	Cumaric Acid peak1 200ng	3,037	758737,659	4,485	83318,288
23	11,760			23166,984	0,137	3937,107
24	11,924	Lcid vanilic 40 ppm	6,295	99172,485	0,586	9417,968
25	12,327			56360,750	0,333	4309,616
26	12,765			124821,161	0,738	12515,483
27	13,590			20700,178	0,122	3134,545
28	13,822	Gallotannin, sumac, 11.5min	8,336	127447,422	0,753	16816,882
29	14,010			27334,723	0,162	4221,241
30	14,560			193070,534	1,141	18117,827
31	14,774			40324,175	0,238	5165,769
32	15,654			75610,683	0,447	7409,462
33	15,774			23228,887	0,137	4215,741
34	15,931			38349,099	0,227	5317,824
35	16,074			59735,591	0,353	6902,931
36	16,262			154812,019	0,915	14107,478
37	16,612	Cumaric Acid peak1 200ng	9,509	453579,278	2,681	53712,650

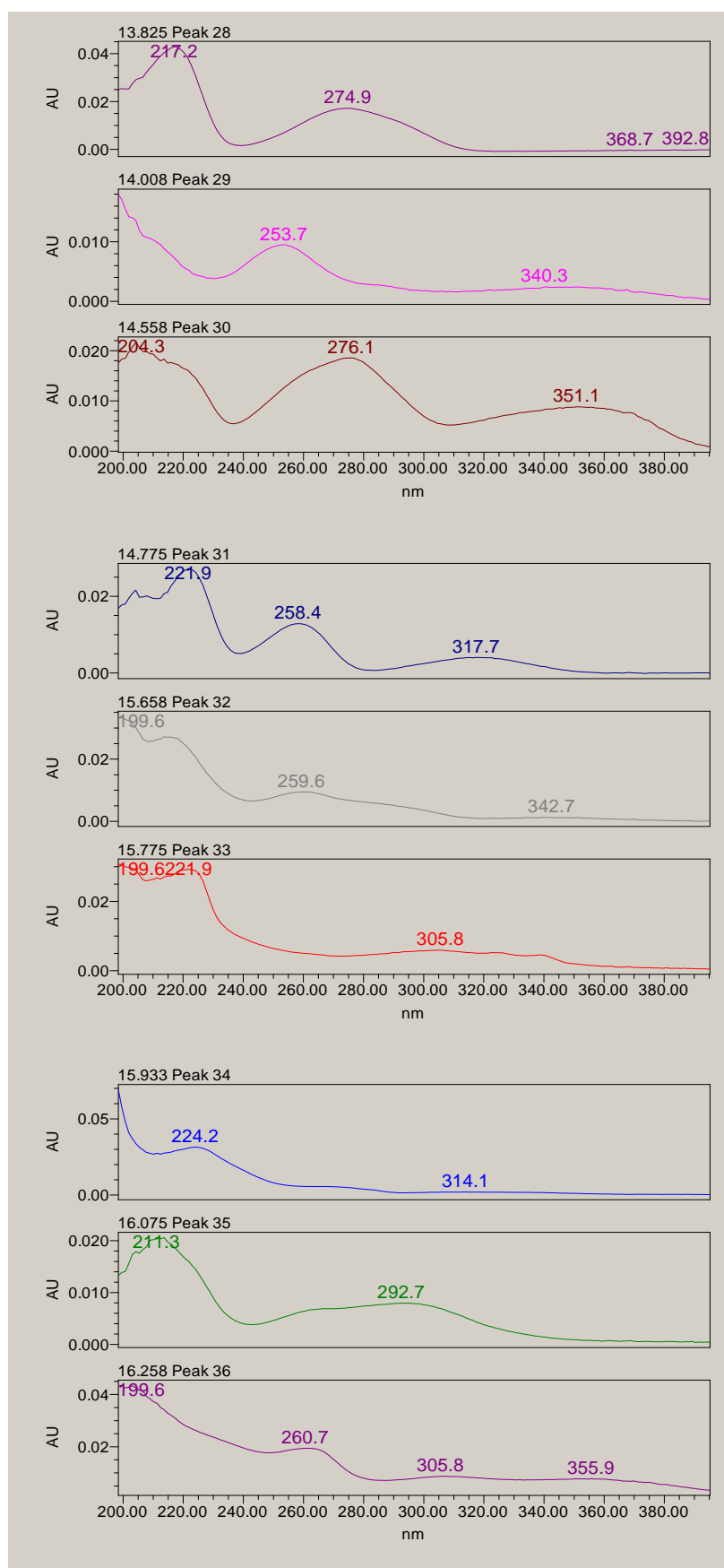
38	16,886			101440,539	0,600	12845,244
39	17,047	Cumaric Acid peak1 200ng	5,363	137397,794	0,812	14881,298
40	17,438			71586,339	0,423	6978,946
41	17,901			18340,547	0,108	2956,516
42	18,515			97197,243	0,575	5430,602
43	18,889			22575,696	0,133	2641,455
44	19,172			73725,609	0,436	8605,284
45	19,505			51879,396	0,307	8298,697
46	19,832			40996,537	0,242	4923,663
47	20,041			5287,112	0,031	1267,059
48	20,408			21943,844	0,130	4214,607
49	20,844			861688,533	5,093	80143,204
50	21,267			103202,512	0,610	19271,908
51	21,407			627626,765	3,710	89599,990
52	21,784			12371,522	0,073	2272,074
53	21,940			5859,320	0,035	1323,424
54	22,149	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	9,907	495606,205	2,929	60068,570
55	22,458			69116,805	0,409	7034,711
56	22,756			178306,313	1,054	21575,028
57	23,092			66329,852	0,392	8423,434
58	23,245			137185,548	0,811	19722,988
59	23,379			232631,413	1,375	26209,572
60	23,610			8255,162	0,049	1559,773
61	23,842			39198,372	0,232	4127,260
62	24,051			95597,618	0,565	11197,907
63	24,201			16347,119	0,097	3024,872
64	24,332			13477,081	0,080	2096,165
65	24,692			1739798,316	10,28 3	168265,256
66	25,471			25438,929	0,150	3411,072
67	25,625	Tanino catequónico restos poda 5%Meta, 19.29min, 101219	7,456	26665,276	0,158	3883,577
68	25,790			27652,749	0,163	3925,476
69	25,965			33545,081	0,198	5291,841
70	26,516			48950,932	0,289	6160,846
71	26,678	Tanino catequónico restos poda 5% H2SO4, 22.90min, 181219	4,709	30899,056	0,183	4063,909
72	27,278			602550,986	3,561	67797,130
73	27,749			187064,075	1,106	20926,976
74	28,272			387558,302	2,291	51041,487
75	32,646			49681,658	0,294	5846,925

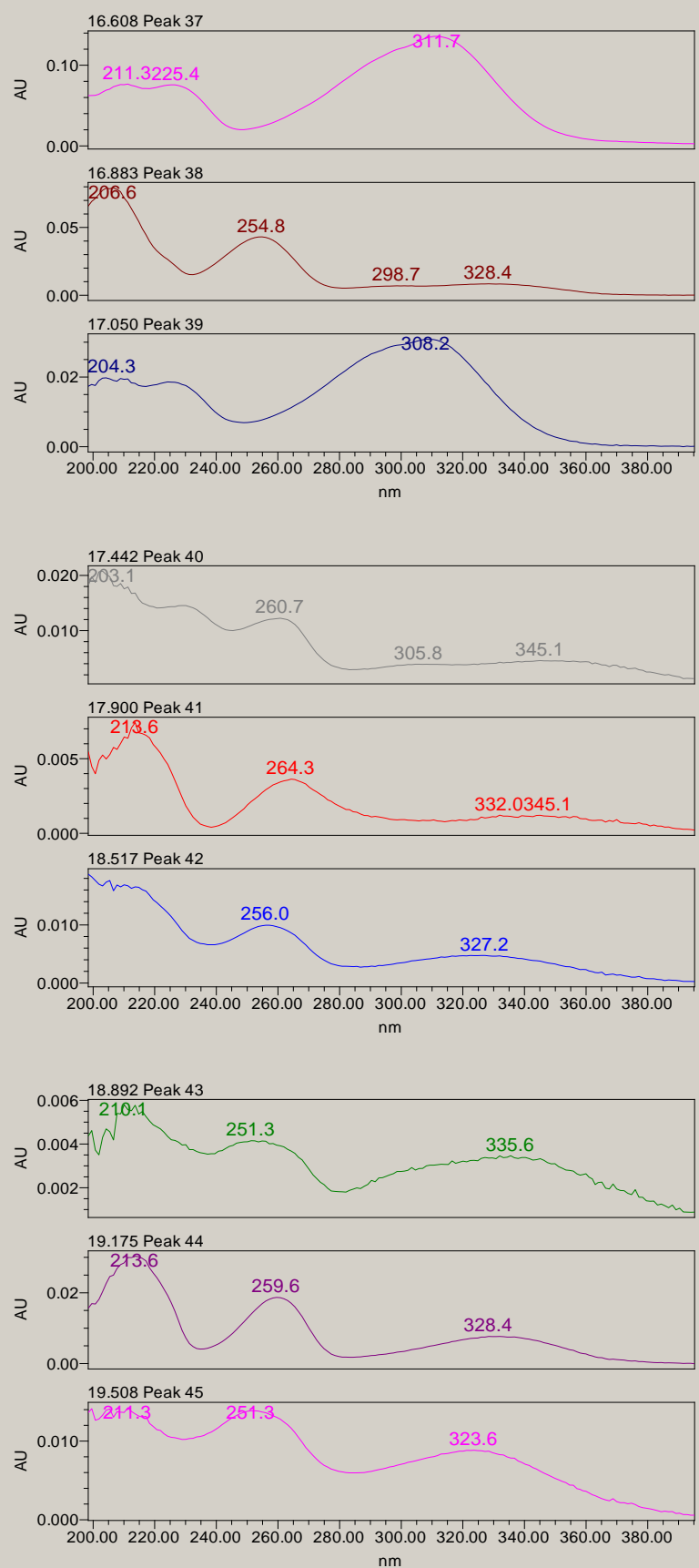


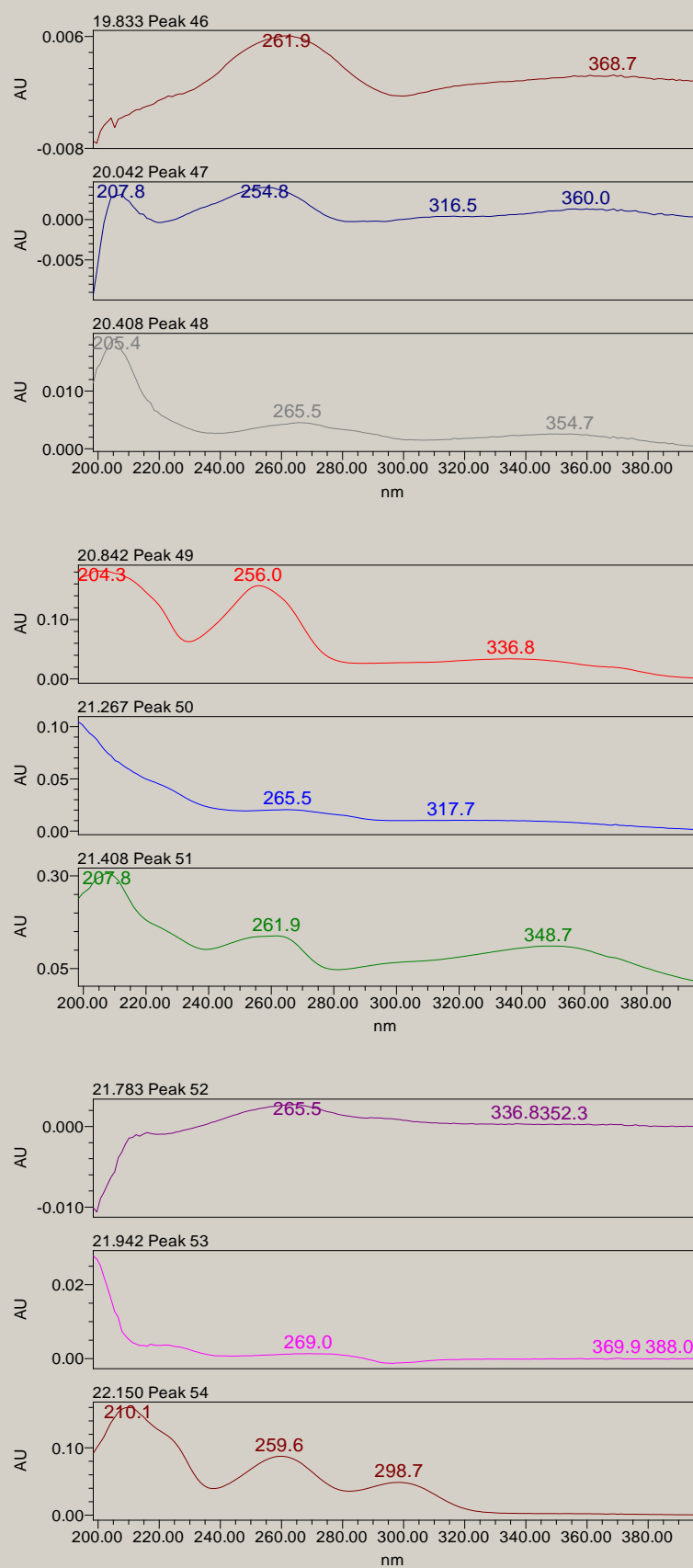


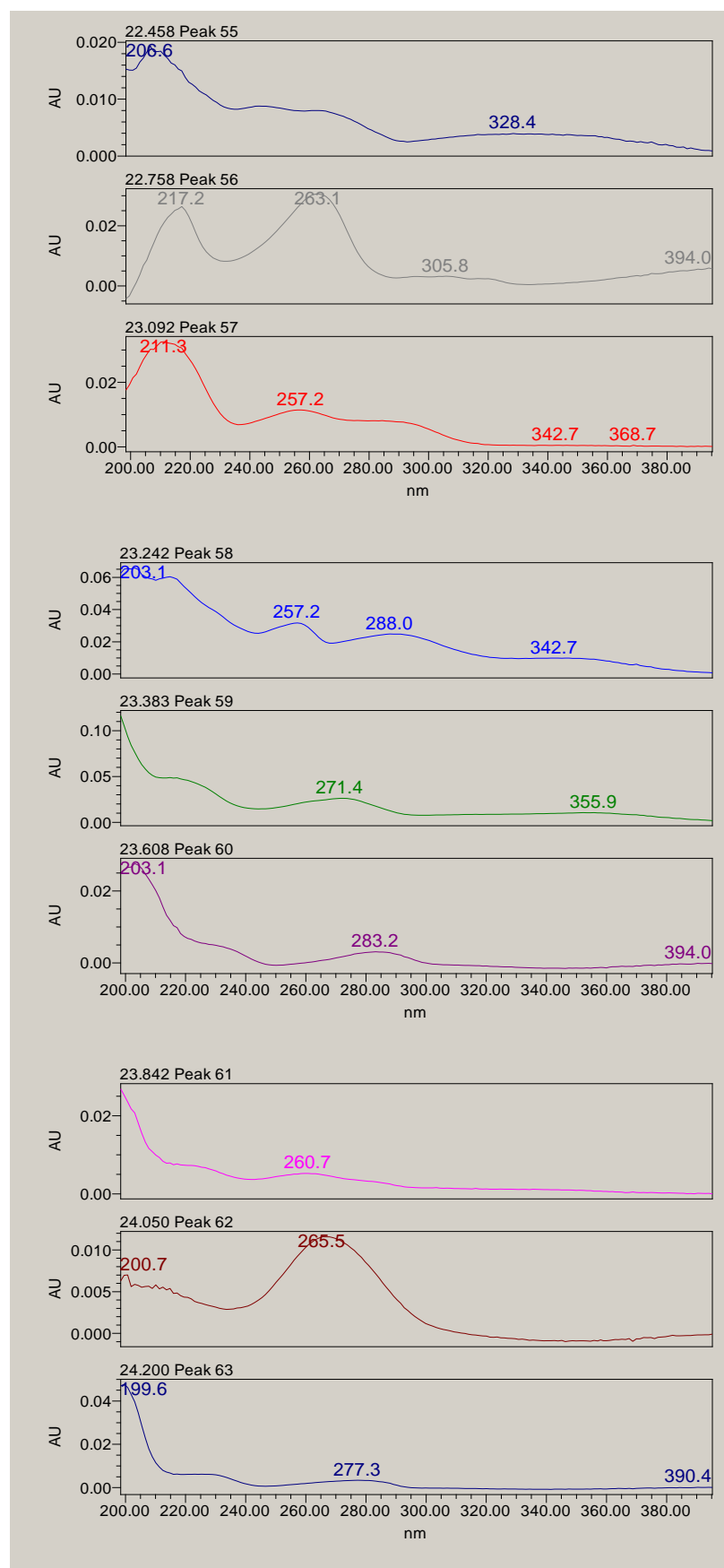


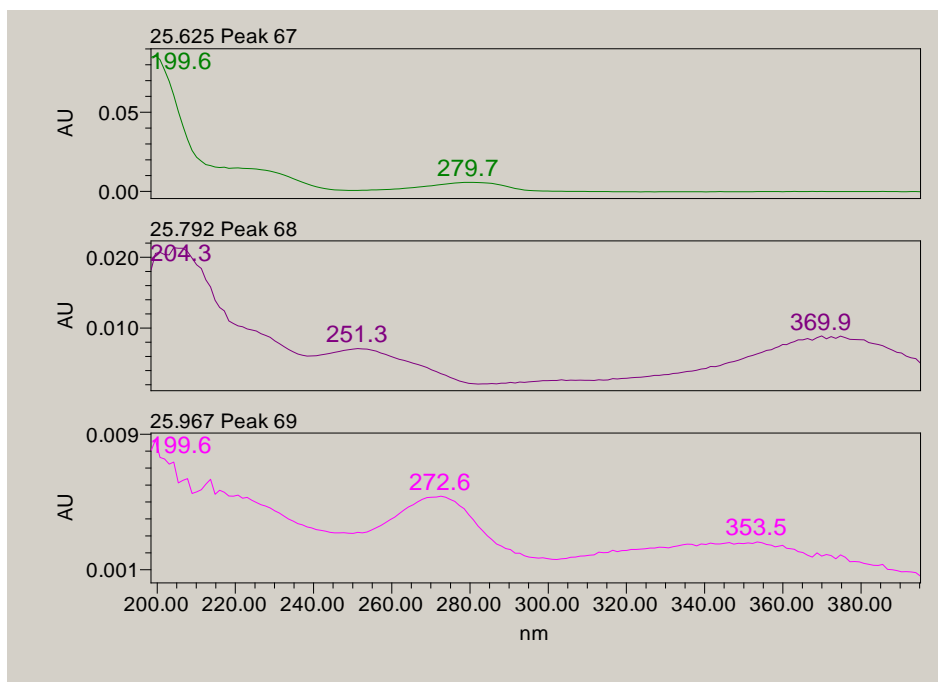
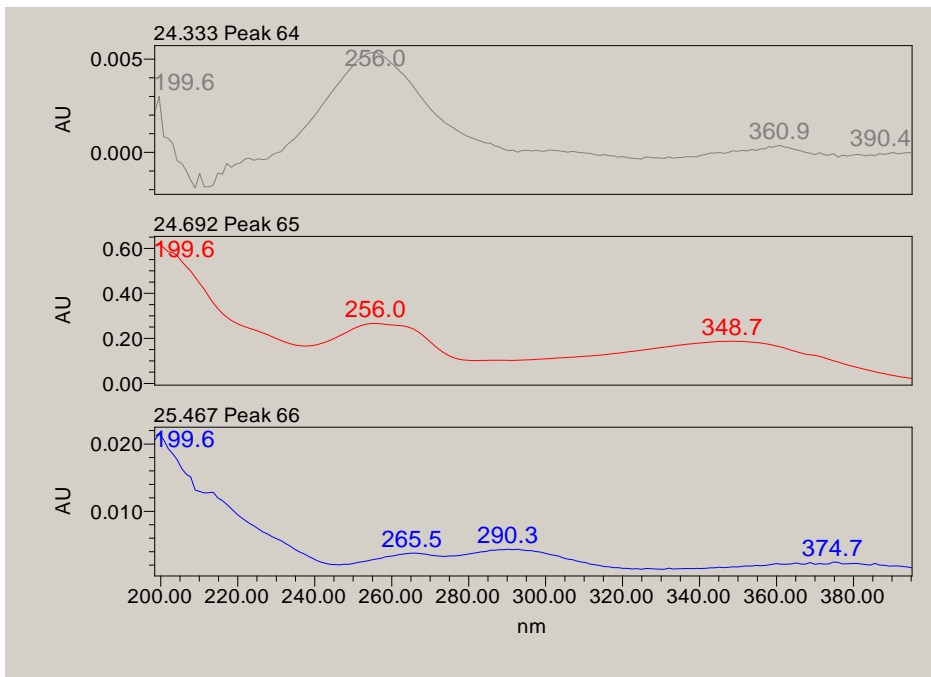


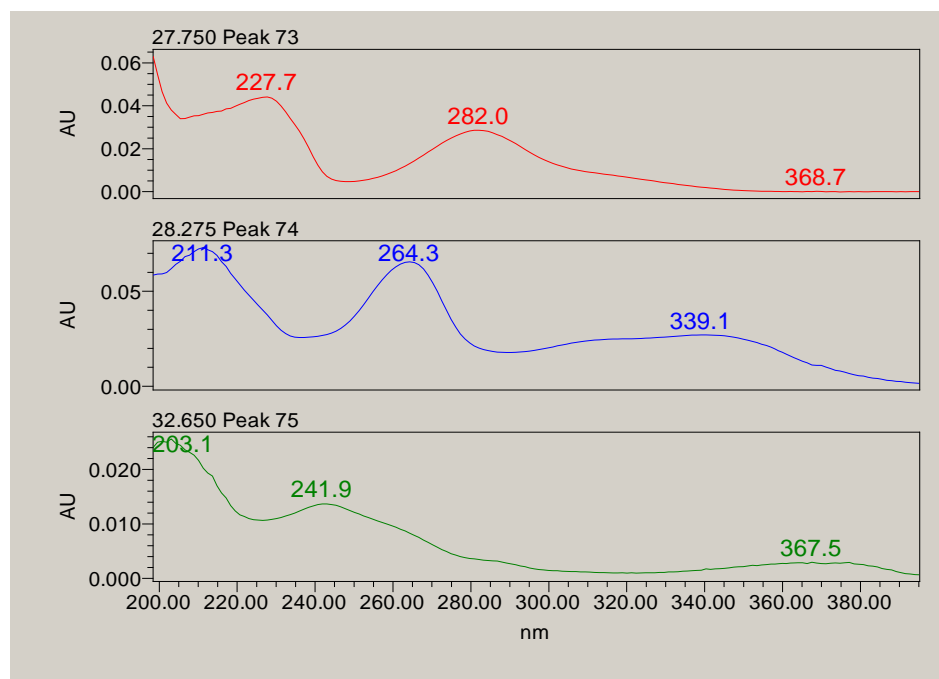
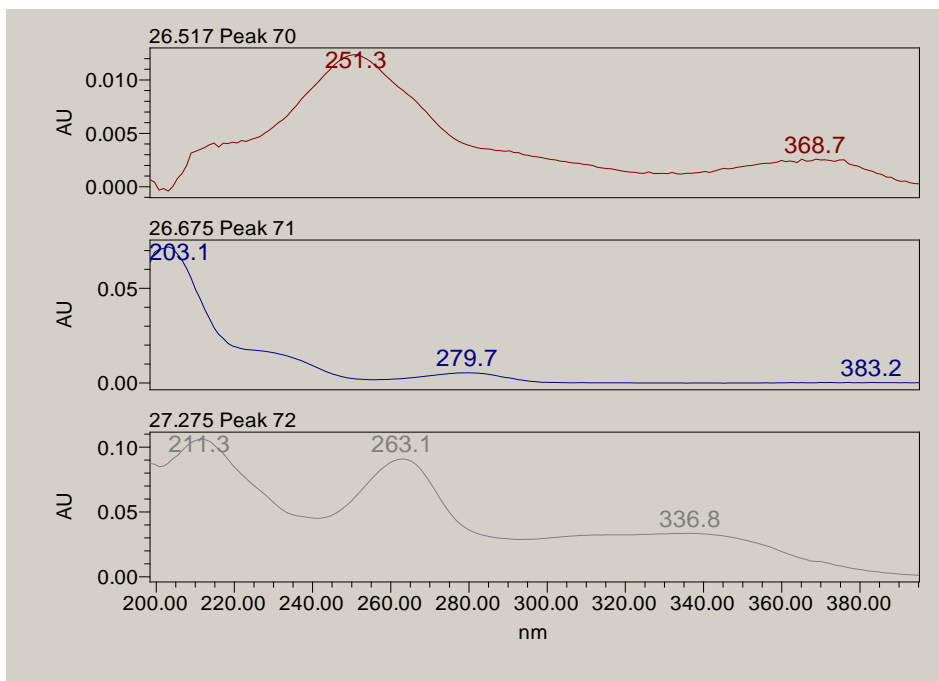










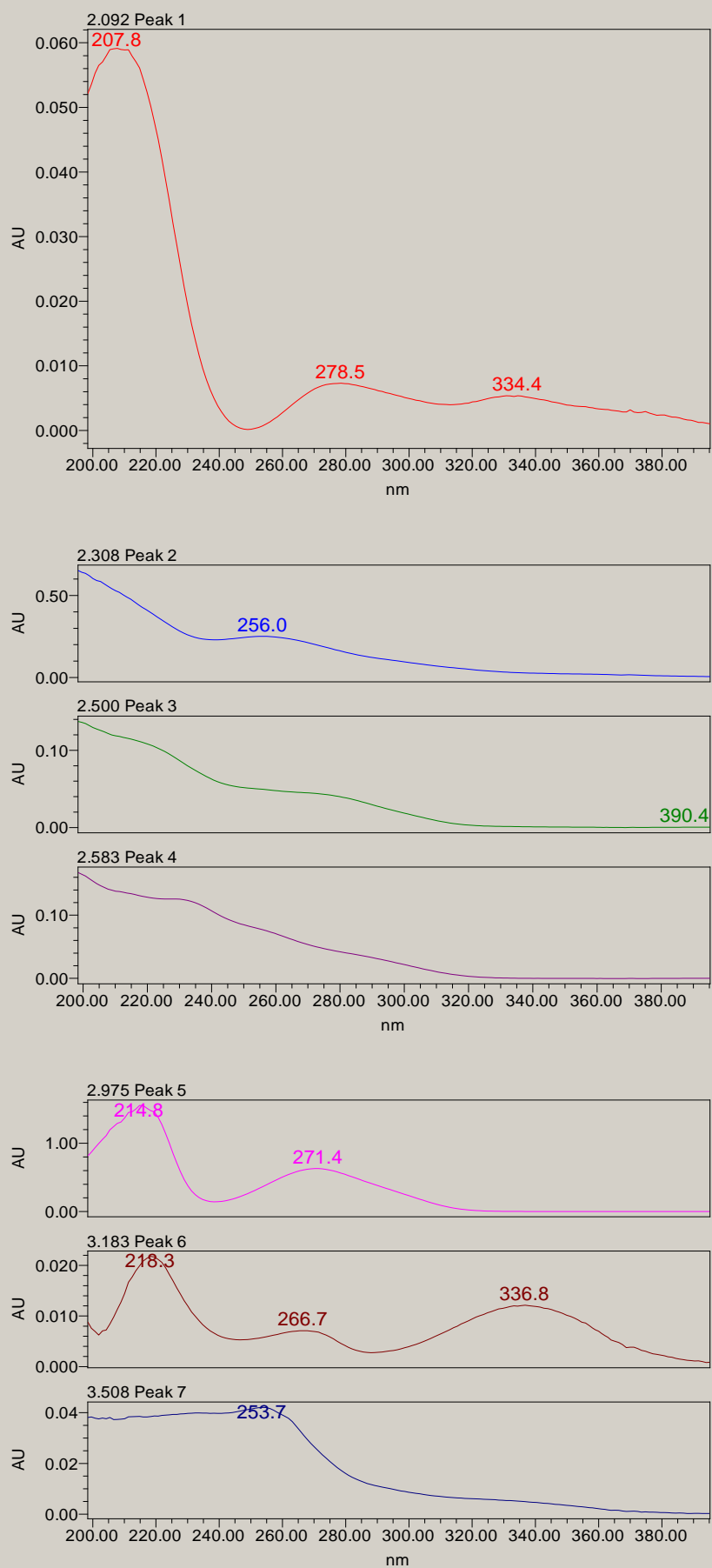




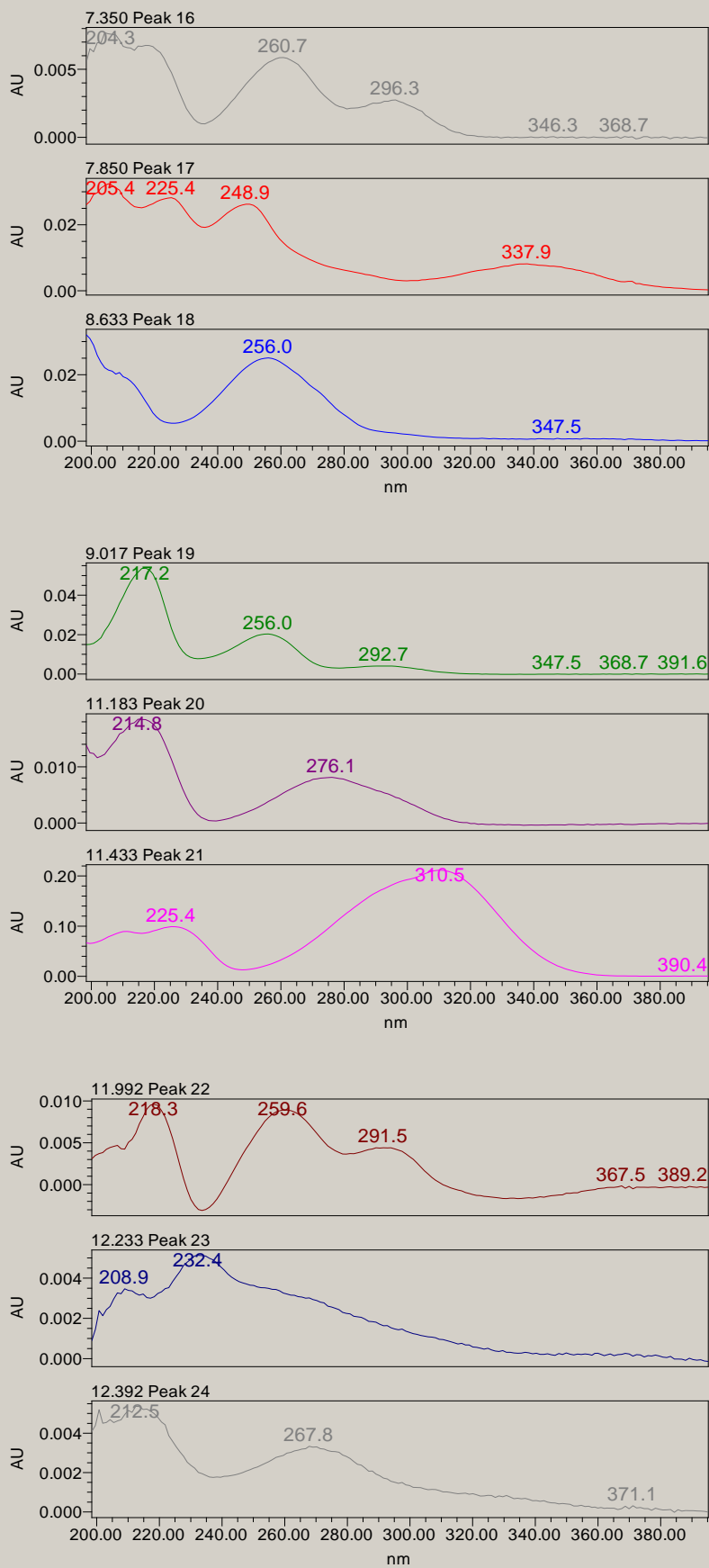
N2 <50 µm

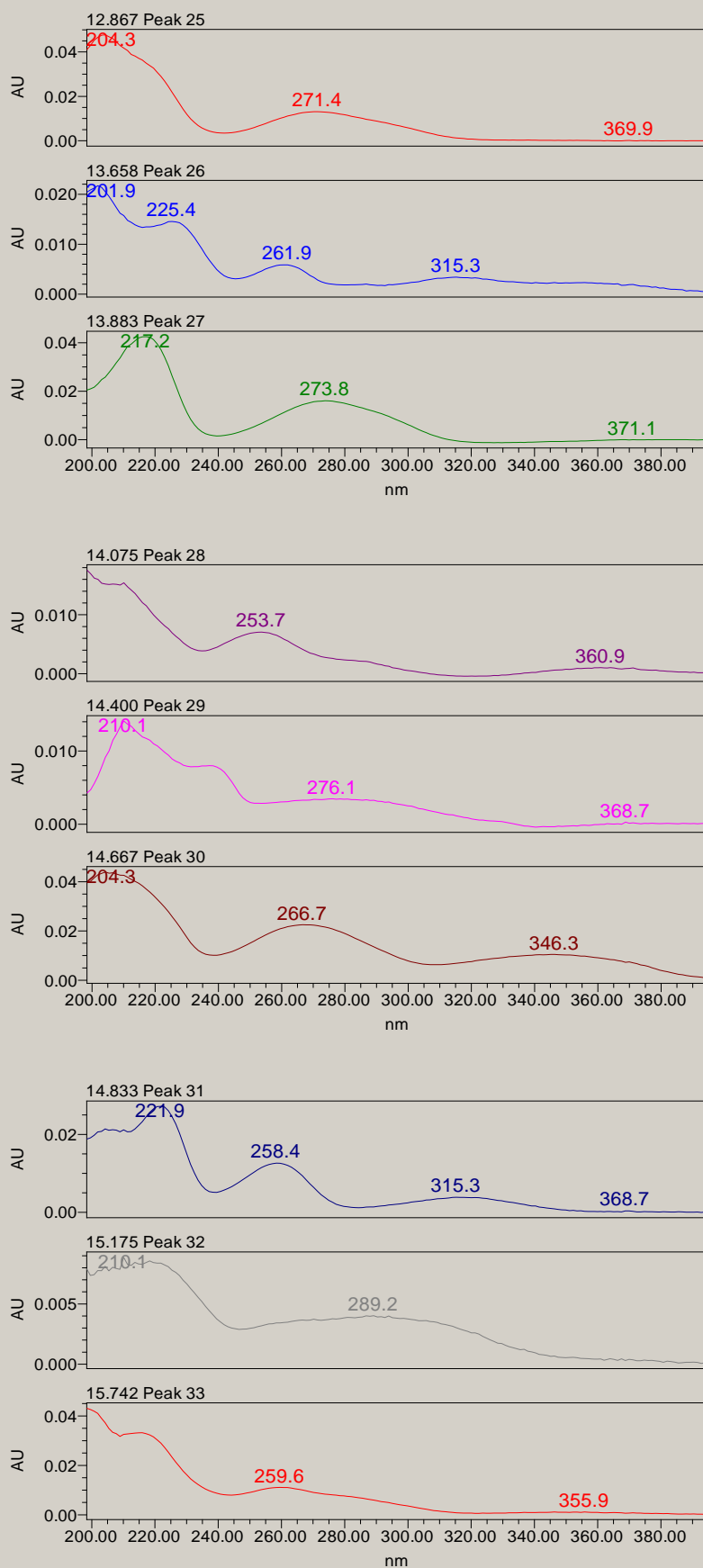
	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area	Height
1	2,091		23711,517	0,132	6634,650
2	2,305		1146304,785	6,400	209699,528
3	2,500	Gallotannin, sumac, 17.3min	231225,959	1,291	44556,628
4	2,585	Pico en extracto casta±o aprox 10.7min	406615,027	2,270	51926,340
5	2,974	Gallic Acid 200ng, 3.2min	3132977,530	17,492	629048,979
8	3,670		18818,944	0,105	3620,818
7	3,507		185939,215	1,038	25232,691
6	3,187		46257,004	0,258	6835,096
16	7,353		44840,306	0,250	3742,670
15	6,871		20139,002	0,112	2513,883
14	6,578		77267,888	0,431	5876,372
13	5,177	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	797112,080	4,450	117049,061
12	4,878		12768,724	0,071	2474,465
11	4,685		69723,579	0,389	4594,092
10	4,149		80068,825	0,447	9751,028
9	3,970		32637,856	0,182	5960,218
17	7,848		81129,687	0,453	8654,377
18	8,630		173350,724	0,968	15522,901
19	9,015		89376,590	0,499	5078,771
20	11,182	Gallotannin, sumac, 11.5min	67930,159	0,379	7856,302
21	11,431	Cumaric Acid peak1 200ng	672143,475	3,753	76163,263
22	11,996		42316,074	0,236	5753,074
23	12,233		19858,215	0,111	2825,470
24	12,394		23261,965	0,130	3236,922
25	12,865		115912,942	0,647	13064,769
26	13,657		22130,366	0,124	2969,933
27	13,880	Gallic Acid, 3.2min	123758,210	0,691	15837,301
28	14,078		29438,597	0,164	3166,887
29	14,401		40517,412	0,226	3379,666
30	14,663		168305,030	0,940	22259,909
31	14,832		41417,696	0,231	5657,139
32	15,173		62712,131	0,350	3684,526
33	15,743		98342,261	0,549	8841,528
34	15,997		45393,444	0,253	4600,531
35	16,372		168877,897	0,943	14409,692
36	16,678	Cumaric Acid peak1 200ng	326363,274	1,822	43261,090
37	16,932		209771,739	1,171	19540,908
39	17,489		57531,535	0,321	4414,062
38	17,133	Cumaric Acid peak1 200ng	81424,941	0,455	9786,585
40	17,655		17941,077	0,100	3106,554
41	18,014		46718,677	0,261	6339,637

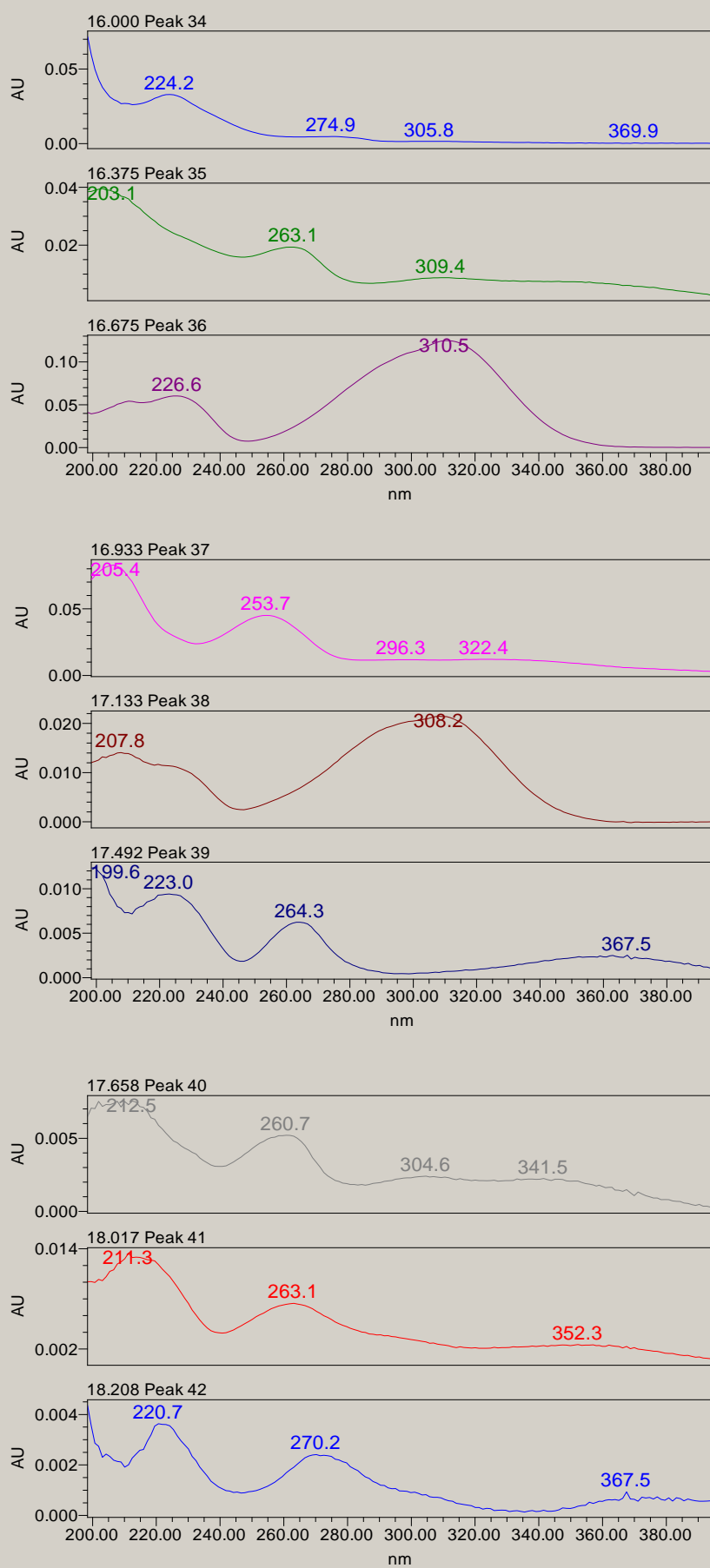
42	18,209		18343,709	0,102	2373,746
43	19,052		10995,531	0,061	1843,683
44	19,262		64481,514	0,360	7875,710
45	19,612		99903,441	0,558	12362,945
46	19,947		134536,539	0,751	9749,651
47	20,249		60531,636	0,338	6312,682
48	20,506		88947,784	0,497	10045,820
49	20,937		835137,788	4,663	87142,269
50	21,353		112532,726	0,628	20623,710
51	21,495		1011741,512	5,649	150258,900
52	21,845		20330,184	0,114	3889,644
53	22,142	traces of Protocatechuic Acid, 6.4min	262294,108	1,464	26350,162
54	22,596		105034,950	0,586	9770,983
55	22,763	Holm oak component, 33.2min	29834,302	0,167	4686,898
56	23,041		267006,788	1,491	23802,112
57	23,300		204834,177	1,144	25792,367
58	23,396		197353,637	1,102	23837,787
59	23,662		10982,849	0,061	1971,430
60	23,871		43443,772	0,243	4937,264
61	24,107		78722,917	0,440	9775,252
62	24,251		22358,967	0,125	3866,930
63	24,403		16116,423	0,090	2476,681
64	24,763		3329413,423	18,589	390034,760
66	25,563		50833,256	0,284	6239,028
65	25,196		19328,223	0,108	2234,069
67	25,710		74007,405	0,413	6718,937
68	26,054		47813,522	0,267	6294,543
69	26,205		23878,897	0,133	3716,506
70	26,614		62571,107	0,349	8262,451
72	27,447		261694,593	1,461	27175,270
71	26,760	Tanino catequónico restos poda, 22.98min, 101219	37563,993	0,210	5007,198
73	27,607		460019,849	2,568	52873,644
74	27,843		199717,664	1,115	27088,868
75	28,658		355574,906	1,985	45465,147
76	30,116		55240,901	0,308	5575,048
77	32,725		49515,656	0,276	5799,244
78	33,515		8909,206	0,050	1982,652
79	33,891		27026,549	0,151	4620,978

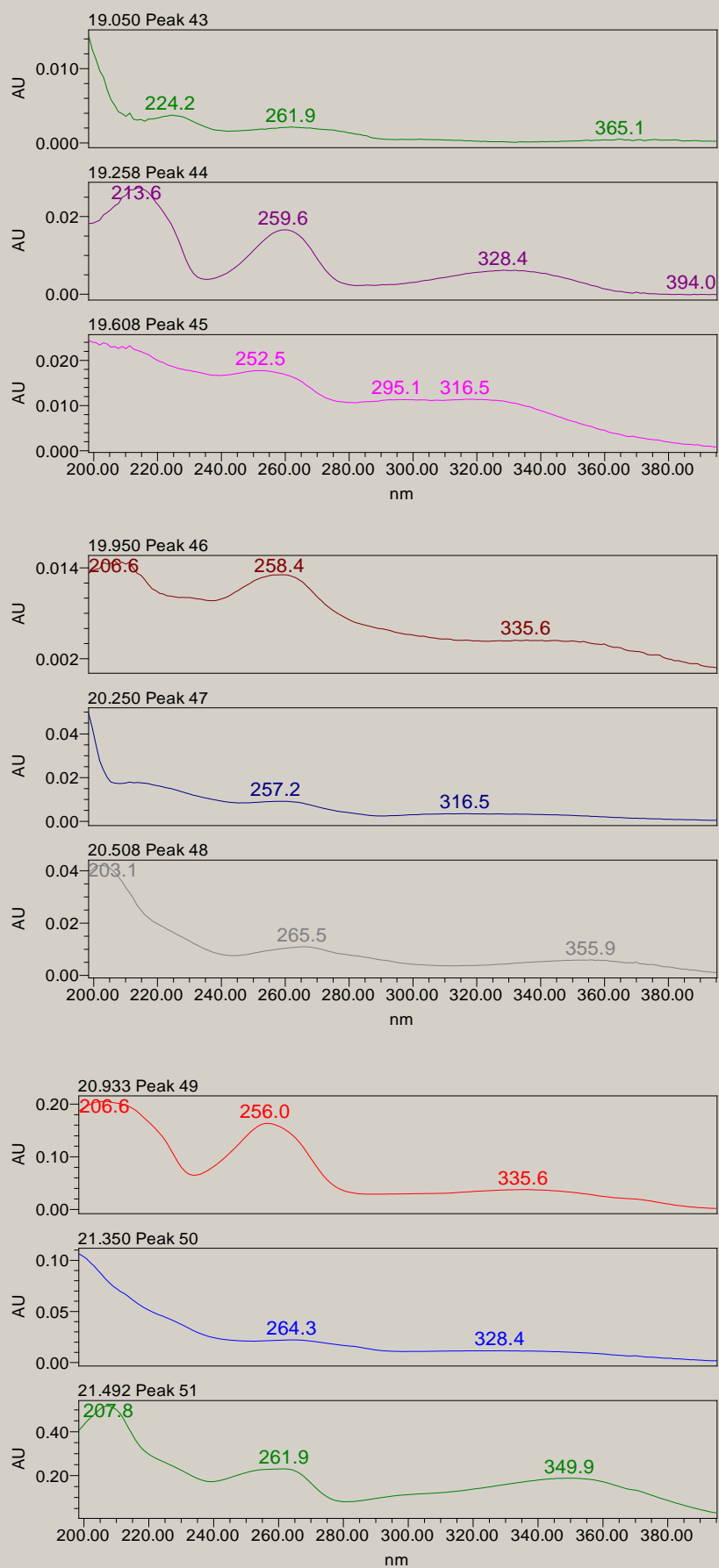




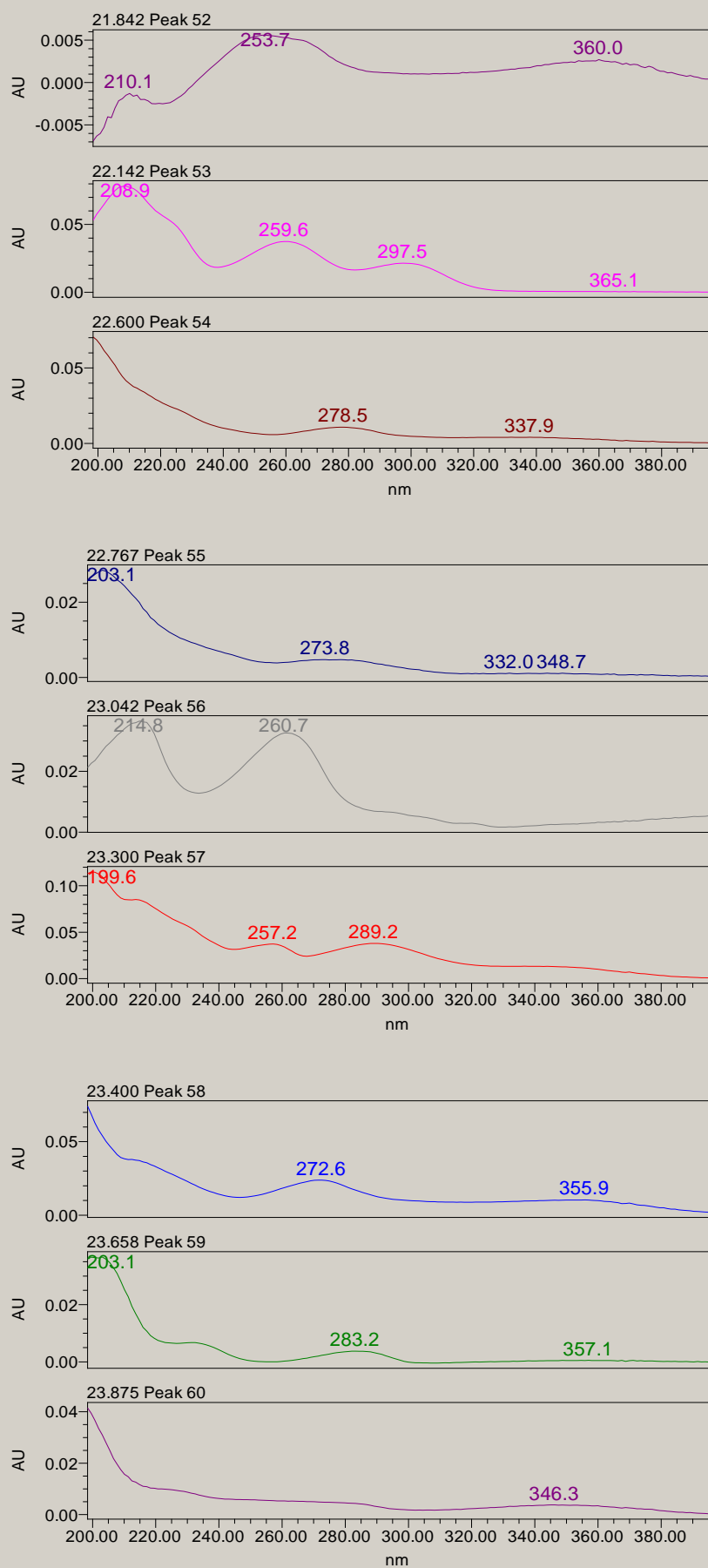


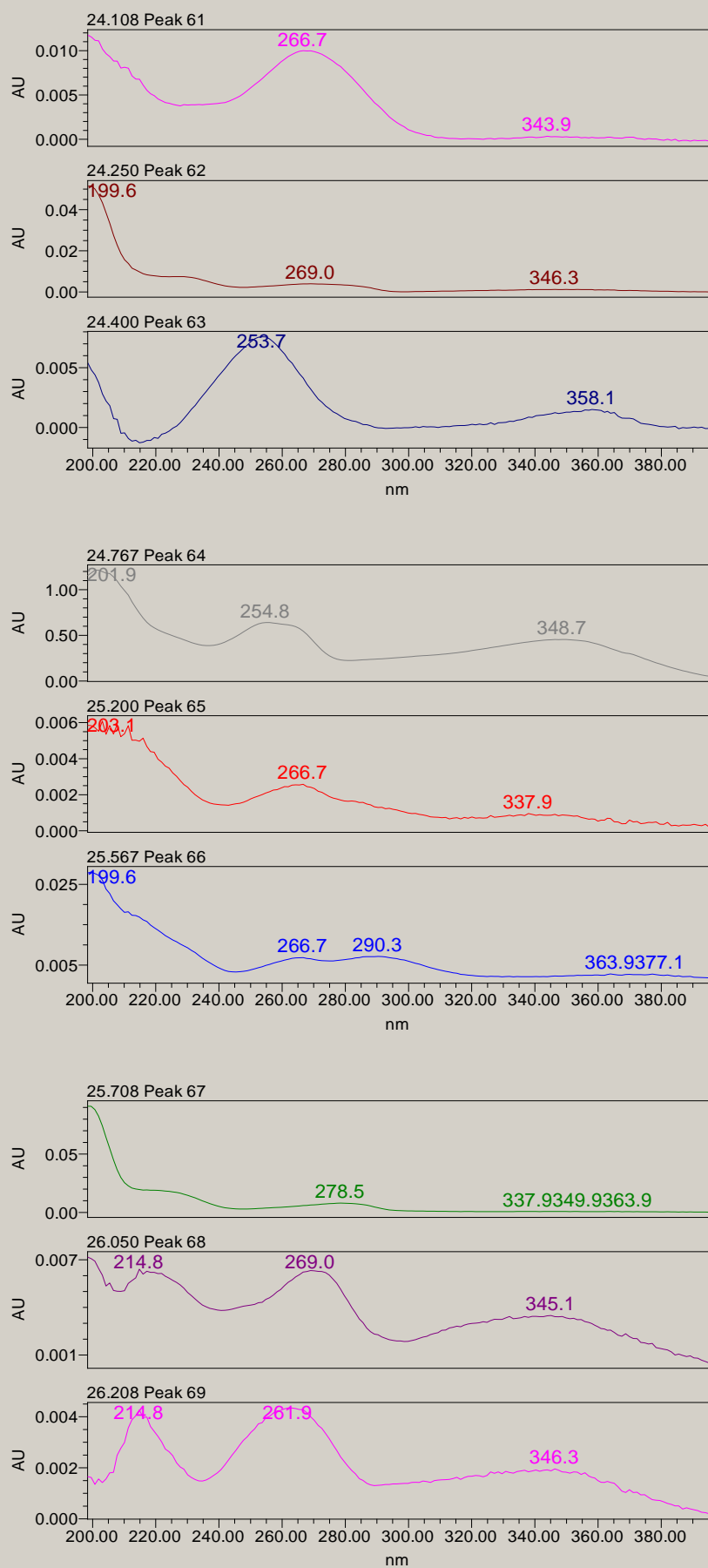


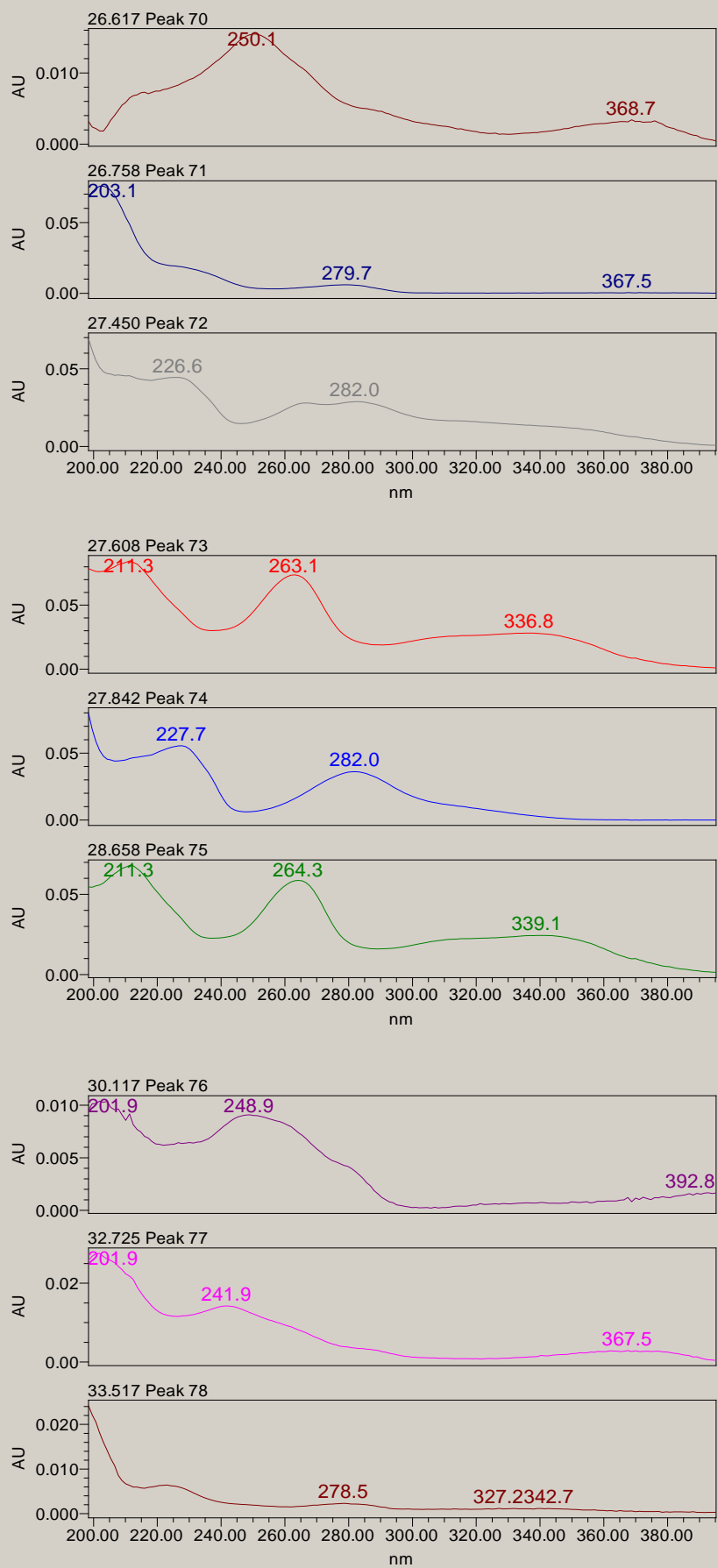








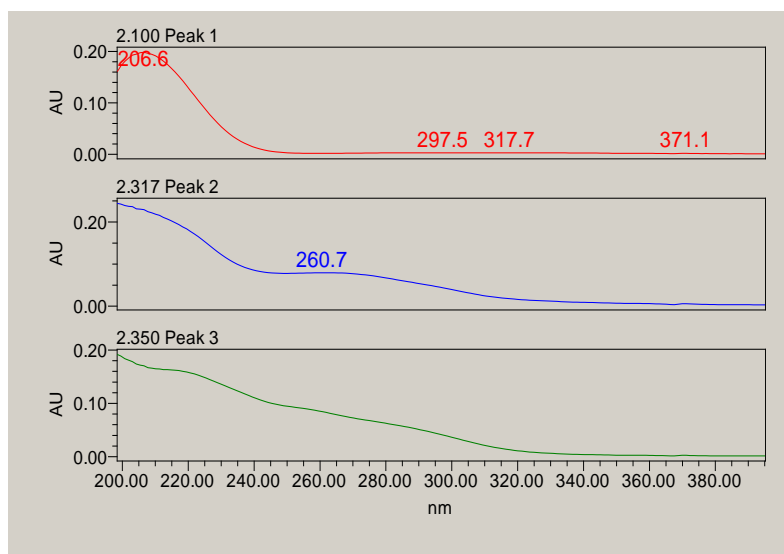


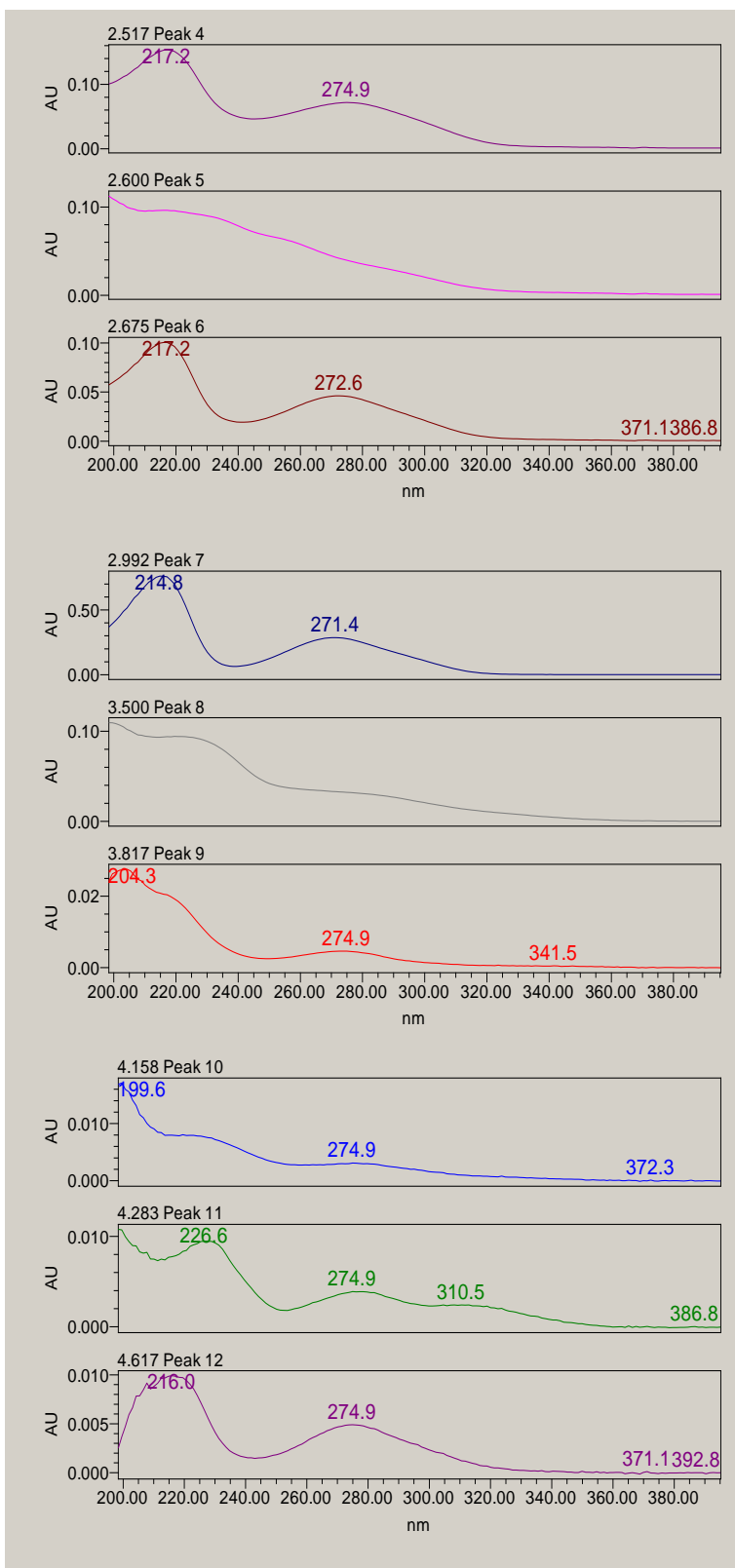


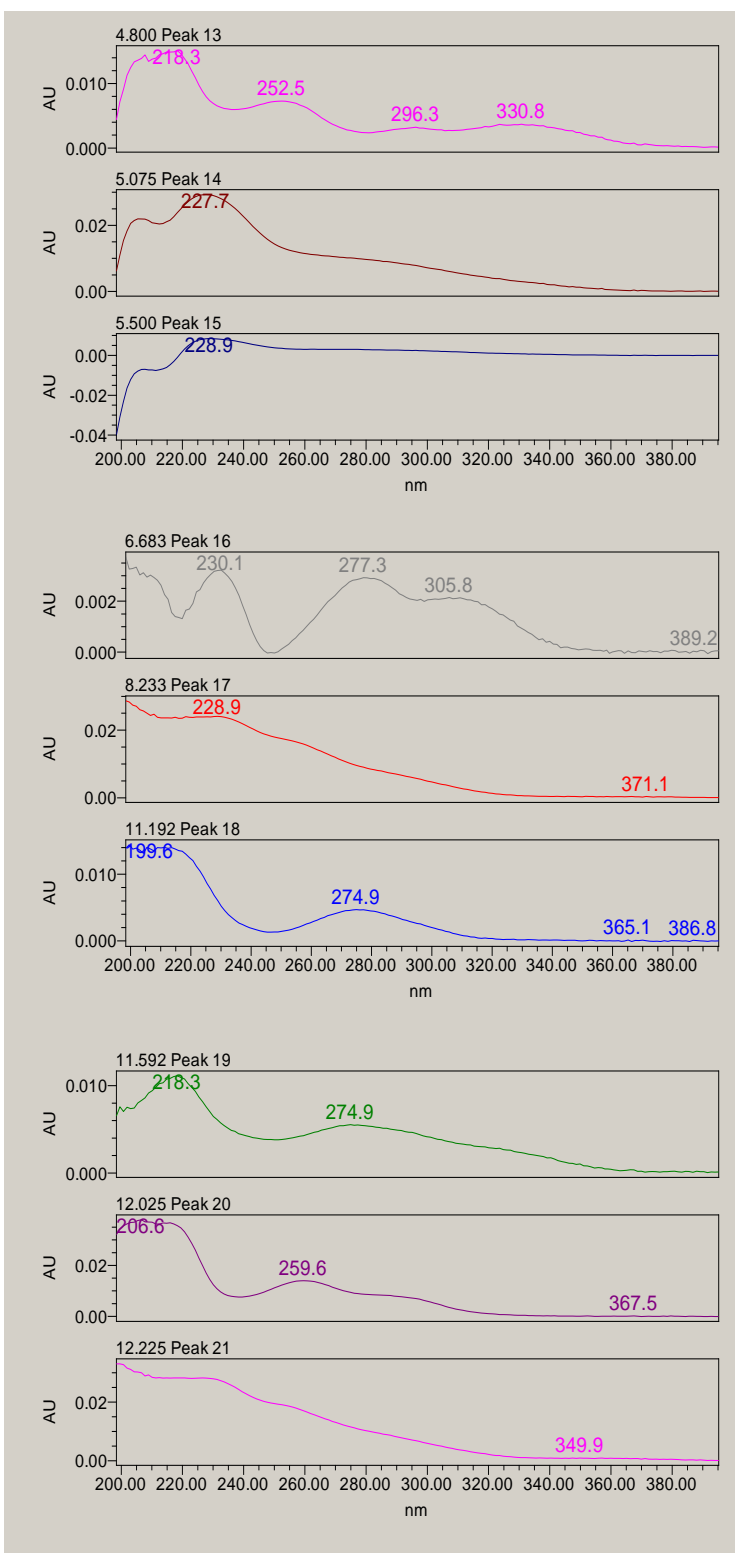
N3 500 µm

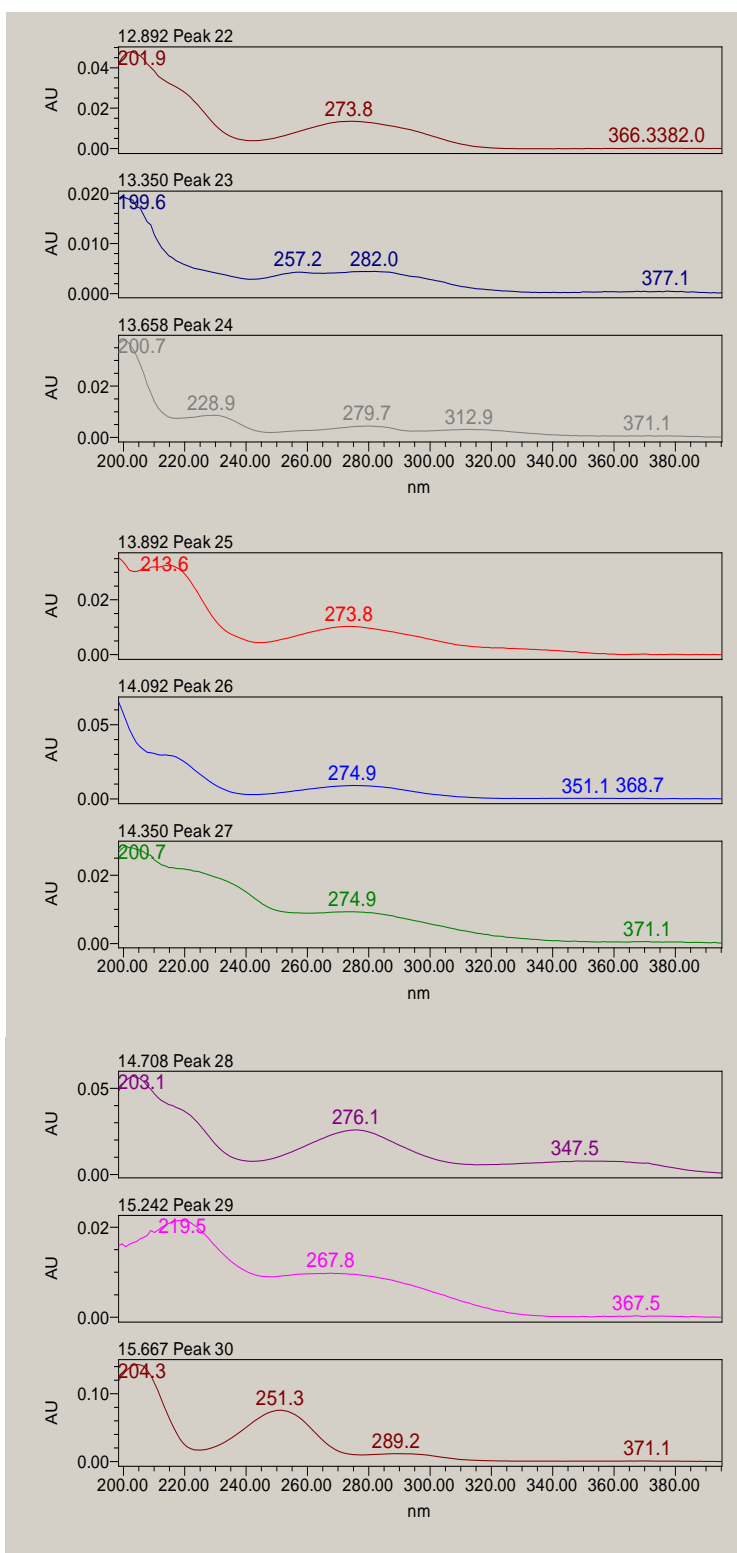
	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area	Height
1	2,097		18780,931	0,215	2206,887
2	2,313		283970,643	3,250	78398,503
3	2,349	Elagitannino del Castaño 17-18 min aprox.	243587,485	2,788	71494,902
4	2,514	Gallotannin, sumac, 23.1min	361042,758	4,133	70481,308
5	2,604	Chestnut component, 4.1min	162596,967	1,861	43380,818
6	2,671	Gallotannin, chestnut, 15.2min	255255,485	2,922	46171,172
7	2,988	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1490172,871	17,057	287592,399
8	3,503	Chestnut component, 3.0min	285474,667	3,268	33054,187
9	3,818		34040,065	0,390	4565,985
10	4,158	Chestnut component, 3.0min	19109,666	0,219	2987,969
11	4,281		27702,145	0,317	3631,371
12	4,615	Gallotannin, roldor, 17.4min	31146,267	0,357	4732,226
13	4,800		24699,938	0,283	3262,308
14	5,075		99912,736	1,144	10377,849
15	5,499		26040,731	0,298	3078,914
16	6,687	Cumaric Acid peak1 200ng	30173,896	0,345	2608,802
17	8,232		114281,360	1,308	10773,815
18	11,189	Gallotannin, sumac, 12.2min	45392,408	0,520	4508,135
19	11,588		69222,442	0,792	5388,986
20	12,021	Gallotannin, roldor, 15.9min	157939,451	1,808	10610,801
21	12,228	Chestnut component, 4.1min	130597,794	1,495	12743,870
22	12,888	Gallotannin, sumac, 10.4min	169710,025	1,943	13362,835
23	13,352		73092,150	0,837	4190,611
24	13,661		29906,048	0,342	3752,691
25	13,895		99313,050	1,137	10205,386
26	14,095		80667,370	0,923	8718,397
27	14,350		91893,276	1,052	9257,545
28	14,705		208272,093	2,384	24757,604
29	15,242	Gallotannin, sumac, 16.7min	95764,020	1,096	9659,447
30	15,665		92692,783	1,061	13752,595
32	16,508		33404,391	0,382	4322,331
31	15,891		212617,581	2,434	22266,012
33	16,698		31920,743	0,365	5132,895
34	16,962		251255,994	2,876	25288,095
35	17,270		28726,759	0,329	4035,150
36	17,564	Ellagitannin, roldor, 16.5min	72176,113	0,826	7631,320

37	17,849		24362,972	0,279	3692,234
38	18,003		49692,466	0,569	5395,483
39	19,685		11048,343	0,126	1963,356
40	19,907		13710,438	0,157	2735,136
41	20,030	Ellagitannin, roldor, 20.2min	206507,404	2,364	31671,153
42	20,907	Ellagitannin, roldor, 16.5min	324437,113	3,714	37233,832
43	21,383		56242,821	0,644	4211,558
44	21,810		48945,896	0,560	6886,683
45	21,978		14469,723	0,166	2408,307
46	22,348		11731,695	0,134	2299,923
47	22,621	Catechin Gallate 200ng, 23.0min	53021,115	0,607	5663,266
48	22,883	Gallotannin, roldor, 19.1min	188525,939	2,158	28981,986
49	23,089		195140,929	2,234	27479,625
50	23,245		221865,048	2,540	27711,443
51	23,485		32936,418	0,377	4587,971
52	23,853		41992,919	0,481	5189,566
53	24,099		85321,013	0,977	7639,160
54	24,402	Ellagitannin, roldor, 20.2min	44414,881	0,508	6704,634
55	24,665		828484,791	9,483	111179,000
56	24,908	Ellagitannin, roldor, 20.2min	392408,137	4,492	57287,173
57	25,711		23991,982	0,275	3699,220
58	26,606		19965,389	0,229	2252,646
59	26,768		27694,761	0,317	3679,803
60	27,325	Elagitanino del Casta±o 33- 34 min aprox.	139482,744	1,597	19727,426
61	27,698		197381,214	2,259	22105,602



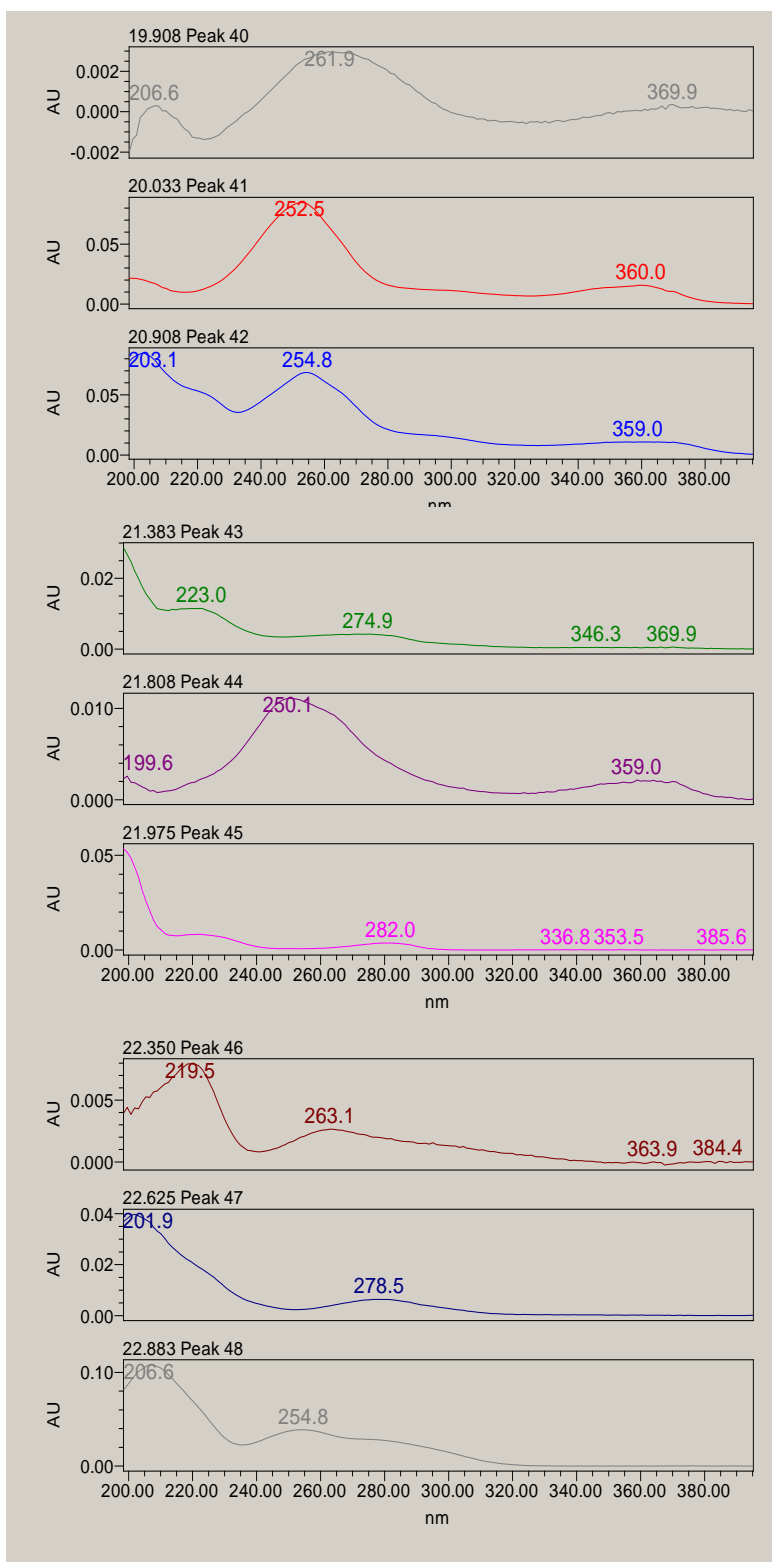


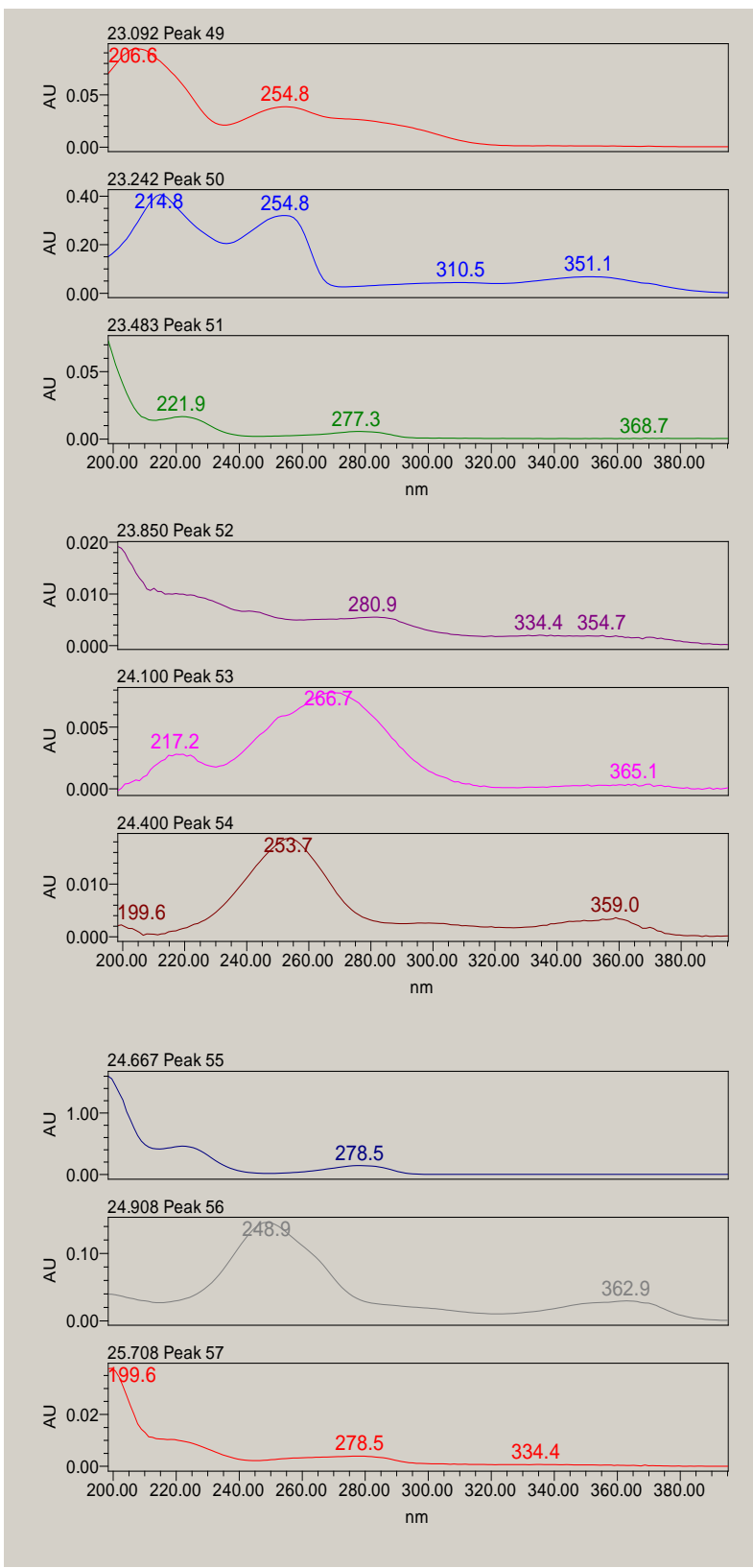


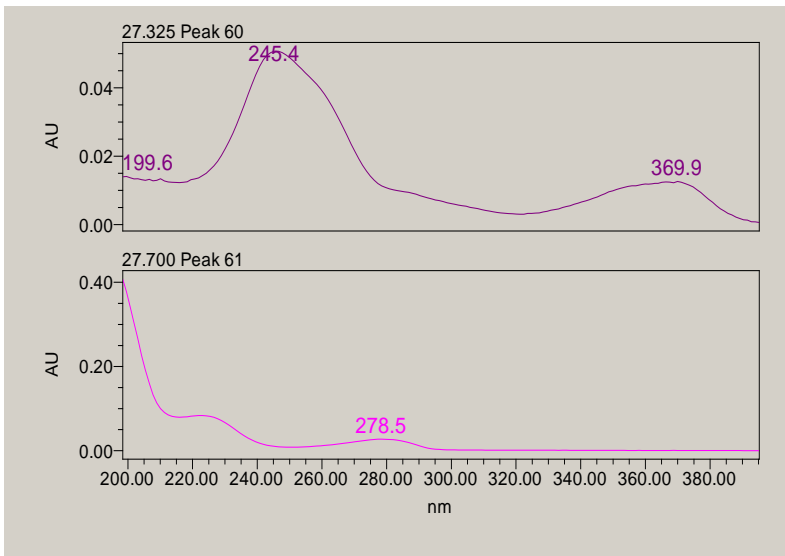
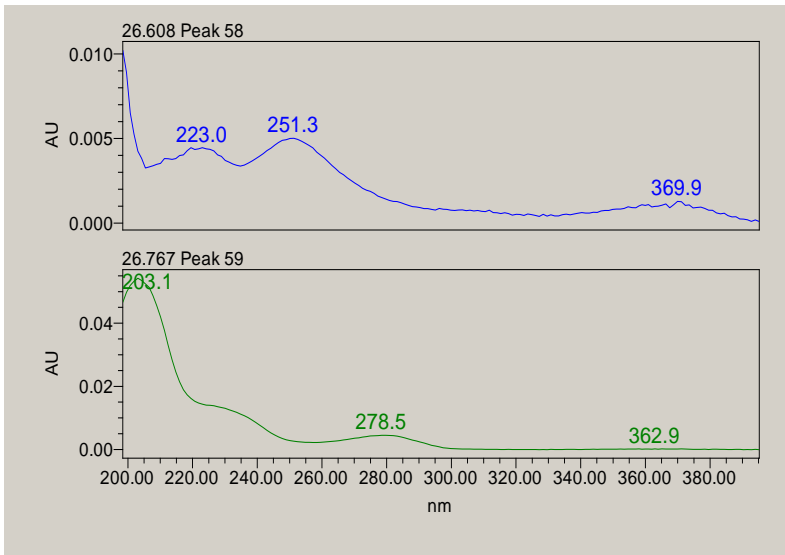








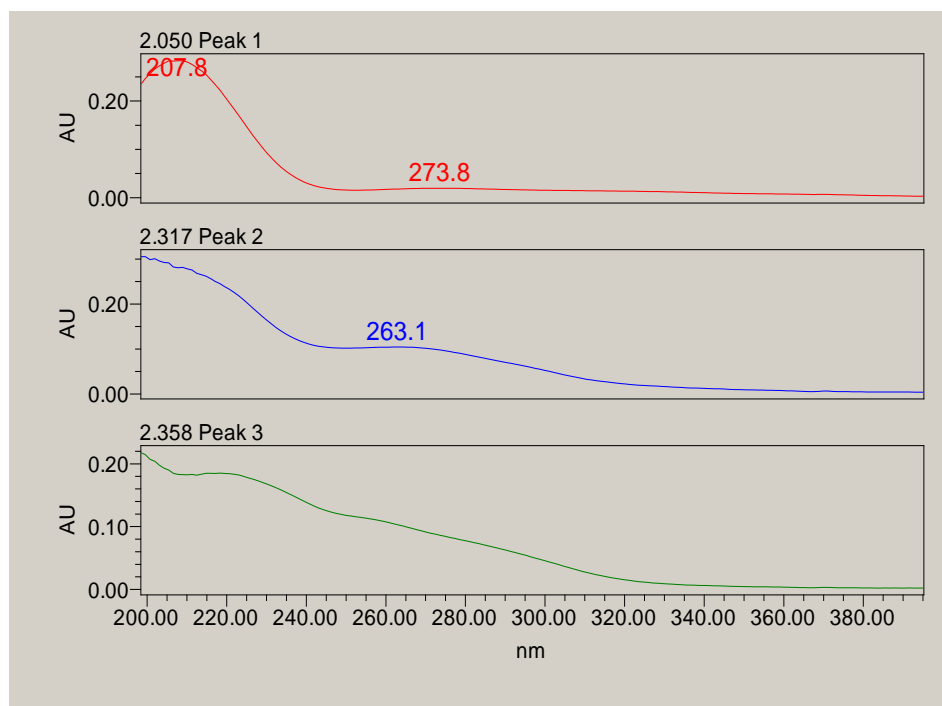


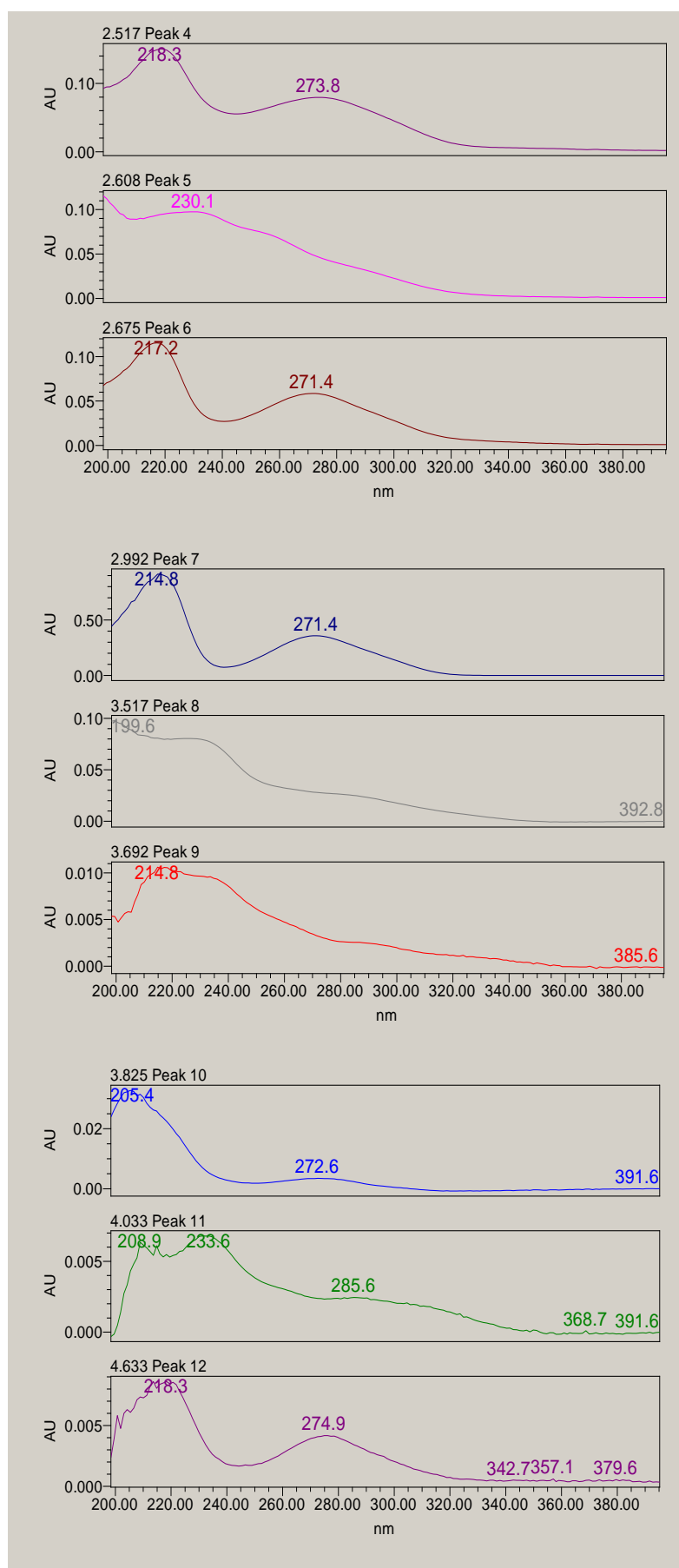


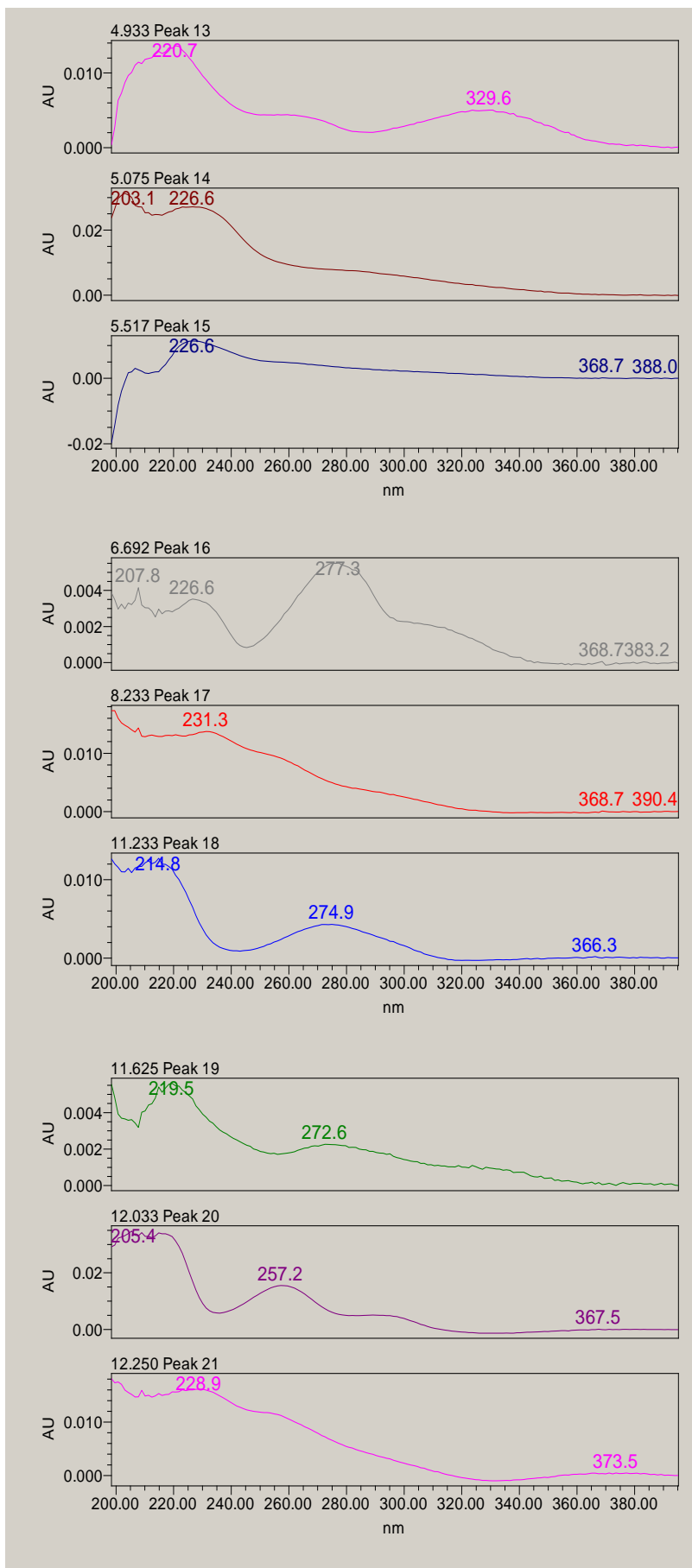
N3 250 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area	Height
1	2,051		173388,686	1,883	19385,194
2	2,319	Chestnut component, 5.2min	376184,800	4,086	100964,466
3	2,358	Elagitannino del Casta±o 17-18 min aprox.	315631,933	3,428	89851,838
4	2,514	Gallotannin, sumac, 23.1min	437498,645	4,752	79076,279
5	2,605		166985,460	1,814	49904,300
6	2,674	Gallotannin, sumac, 23.1min	322849,172	3,507	58432,659
7	2,994	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1826432,154	19,837	358300,258
8	3,515	Chestnut component, 3.0min	199644,870	2,168	28092,134
9	3,690	Chestnut component, 2.9min	20059,794	0,218	3314,513
10	3,828		21385,416	0,232	3416,721
11	4,037		14393,704	0,156	2427,559
12	4,634		27196,335	0,295	3987,117
13	4,937	Sinapic Acid 200ng, + de 21min	28861,249	0,313	3674,594
14	5,075	Chestnut component, 2.9min	84903,486	0,922	8071,811
15	5,517		36454,060	0,396	3945,356
16	6,690		46550,002	0,506	5153,090
17	8,232		57193,303	0,621	5724,206
18	11,233		35984,342	0,391	4260,978
19	11,623		23504,012	0,255	2208,304
20	12,030		88512,555	0,961	8198,772
21	12,252		67601,345	0,734	7573,137
22	12,902	Gallotannin, sumac, 11.5min	149114,543	1,620	13768,444
23	13,345		106007,739	1,151	8035,447
24	13,677		38900,856	0,423	5005,478
25	13,917		80631,726	0,876	10041,722
26	14,093		68839,224	0,748	7939,402
27	14,325	Chestnut component, 2.9min	64347,346	0,699	6924,049
28	14,621		232398,010	2,524	20310,964
29	15,207		45974,037	0,499	6036,722
30	15,349		35404,050	0,385	4519,003
31	15,678		173809,233	1,888	18726,117
32	15,897		149371,802	1,622	20687,999
33	16,492		35920,402	0,390	5057,470
34	16,672		29344,715	0,319	4797,456
35	16,974		310998,430	3,378	30478,695
36	17,250		29804,802	0,324	4043,455
37	17,491		66276,112	0,720	8527,887
39	19,716		12367,258	0,134	2110,380
38	18,002		42813,654	0,465	5718,203
40	20,056	Ellagitannin, roldor, 20.2min	213325,758	2,317	28714,930
41	20,373		13261,581	0,144	2304,885
42	20,495		32864,956	0,357	3018,057
43	20,937	Ellagitannin, roldor, 16.5min	309215,902	3,358	32460,917

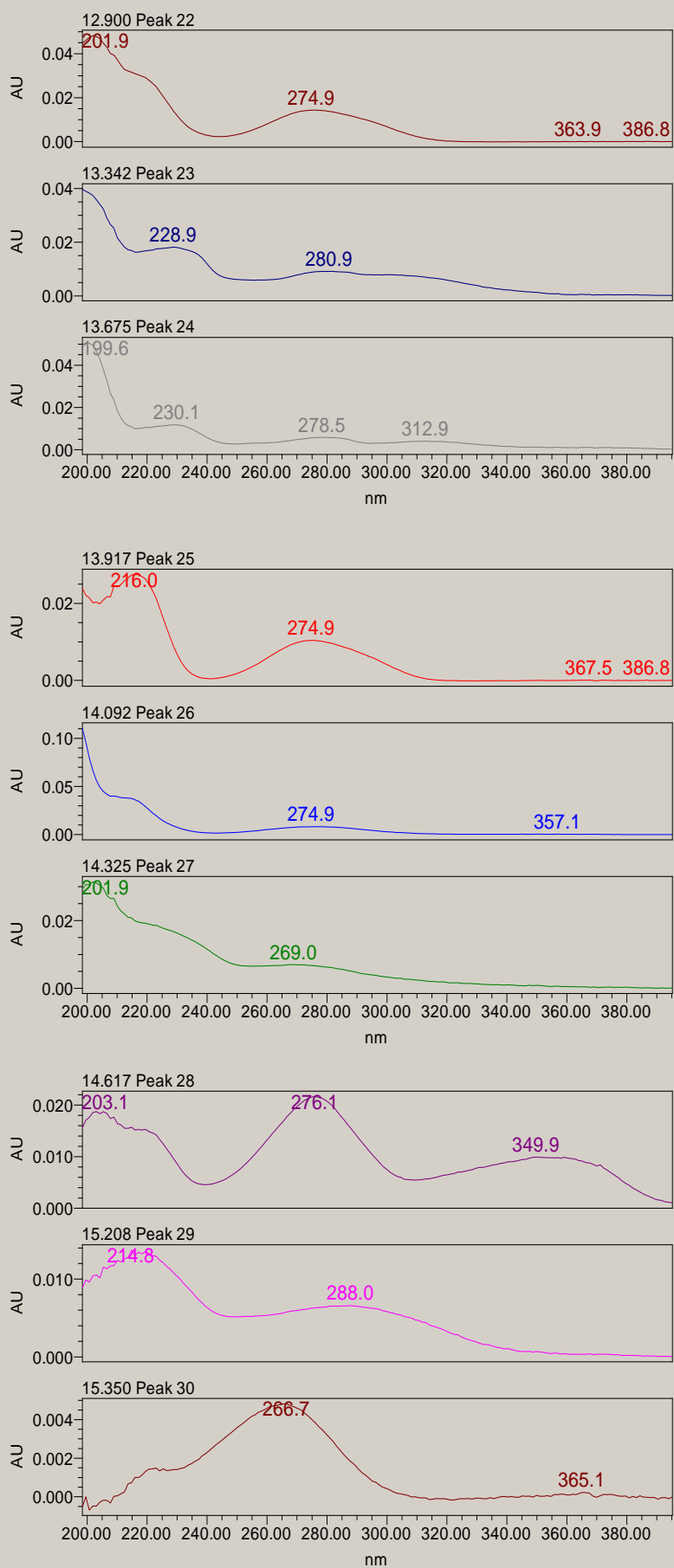
44	21,400		37958,238	0,412	3108,064
45	21,863		42649,868	0,463	6447,444
46	22,035		18127,952	0,197	2969,858
47	22,392		9128,875	0,099	1677,775
48	22,670	Catechin Gallate 200ng, 23.0min	67569,862	0,734	6140,573
49	22,927	Gallotannin, roldor, 19.1min	185982,288	2,020	27529,532
50	23,134		172857,363	1,877	23145,578
51	23,322		265572,539	2,884	34080,836
52	23,528		40062,853	0,435	5146,959
53	23,894		29424,242	0,320	3932,897
54	24,125		101603,584	1,104	9370,645
55	24,427	Ellagitannin, roldor, 20.2min	46208,498	0,502	6330,447
56	24,698		871768,345	9,468	117440,039
57	24,937	Ellagitannin, roldor, 20.2min	343308,176	3,729	50006,275
58	25,743		18602,130	0,202	2876,423
59	26,623	Ellagic Acid 200ng, 21.3min	20152,884	0,219	2461,668
60	26,799		32517,521	0,353	4558,909
61	27,357	Elagitanino del Casta±o 33-34 min aprox.	104826,100	1,139	14701,265
62	27,732		186552,215	2,026	21200,689

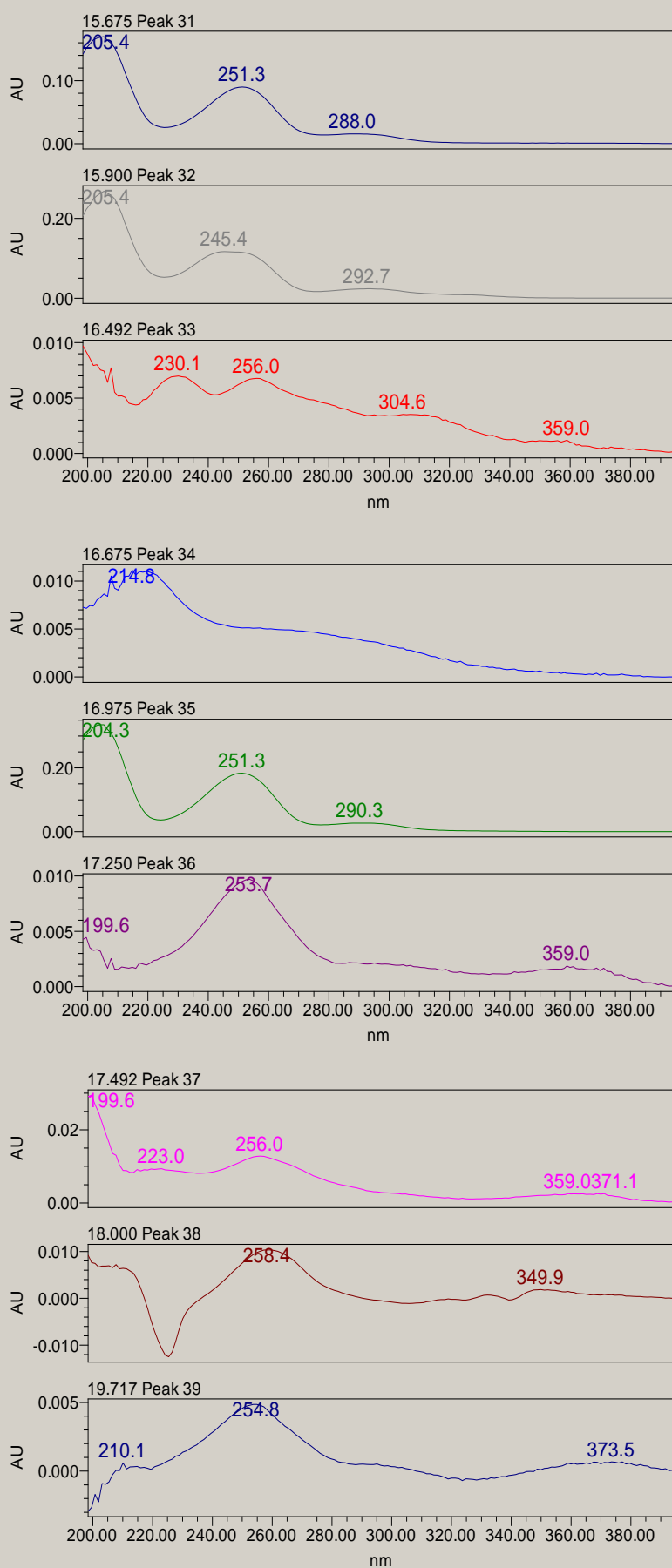


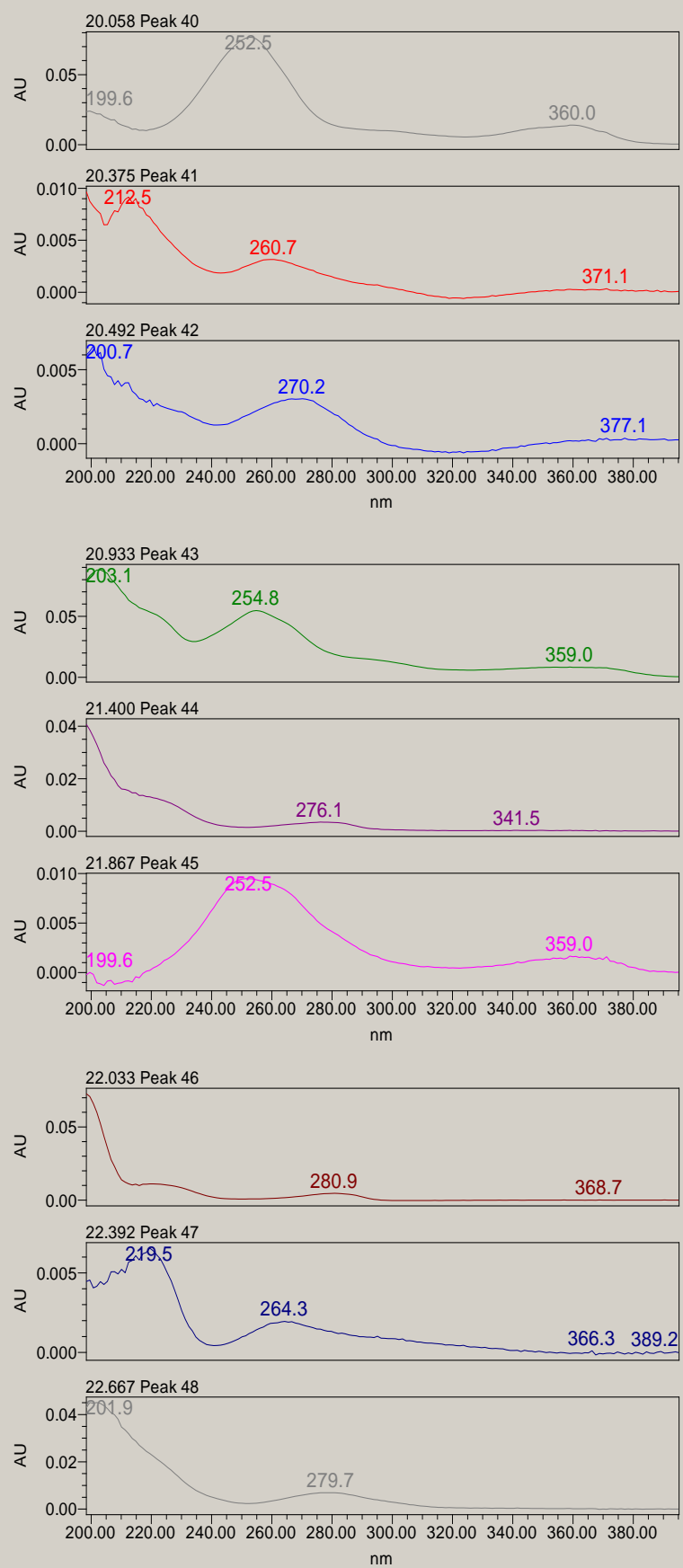


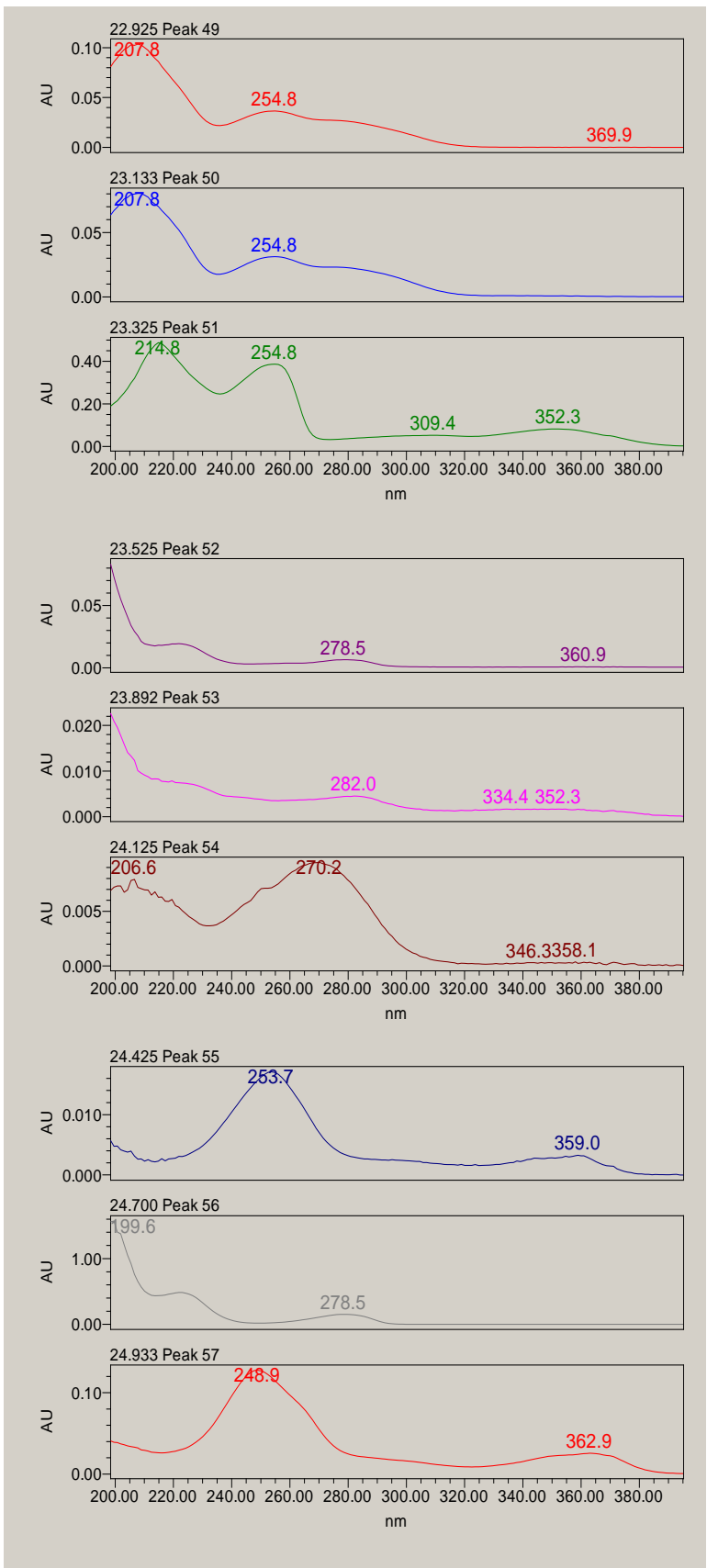


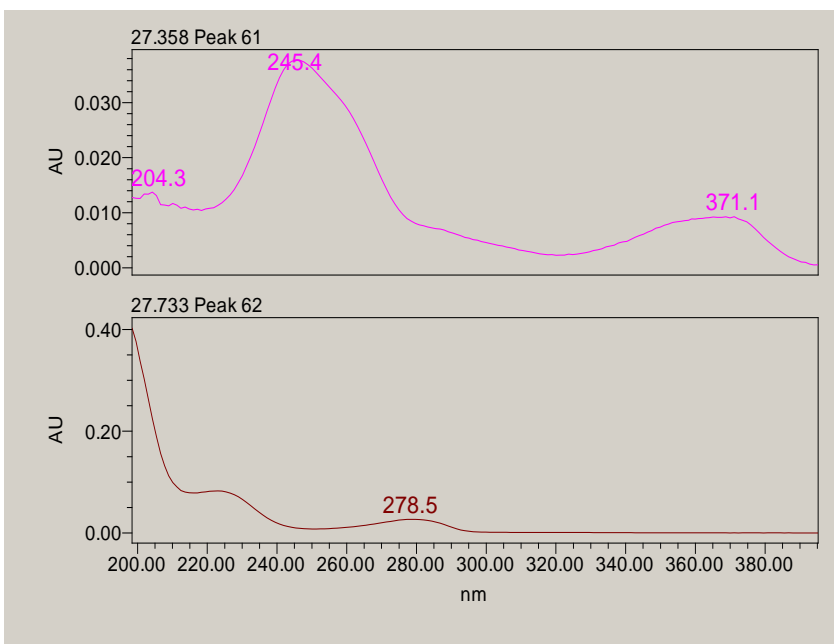
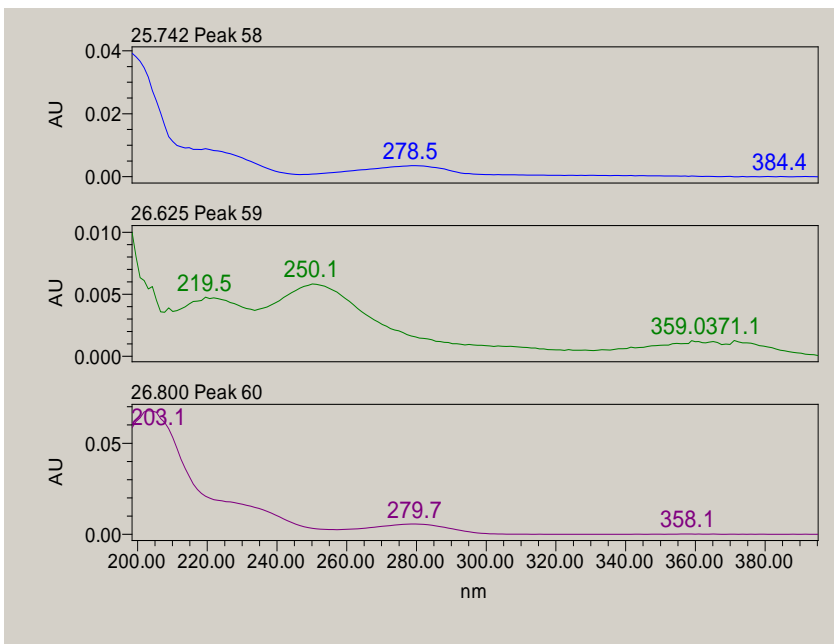








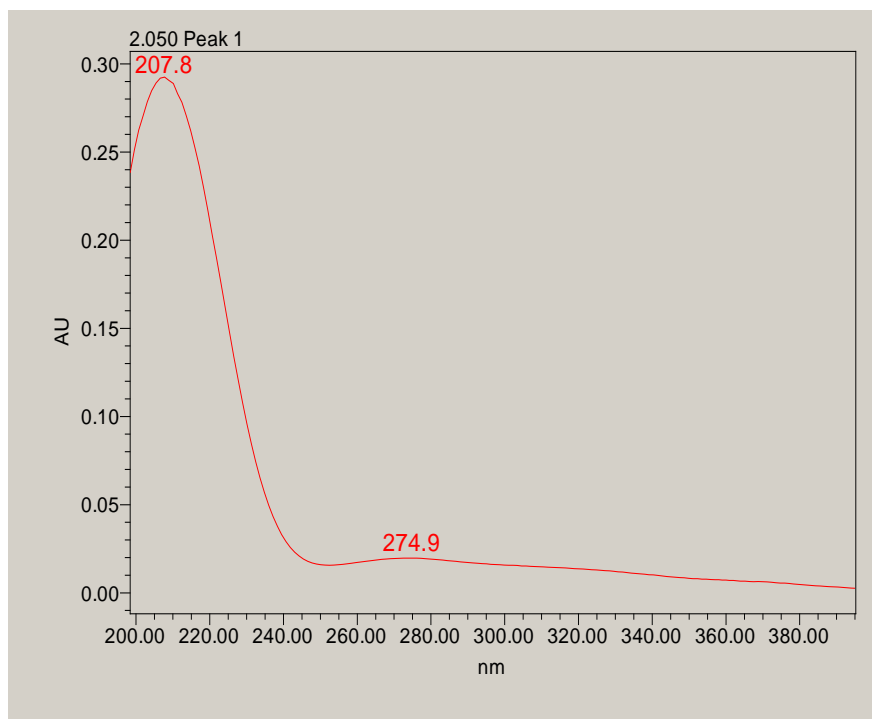


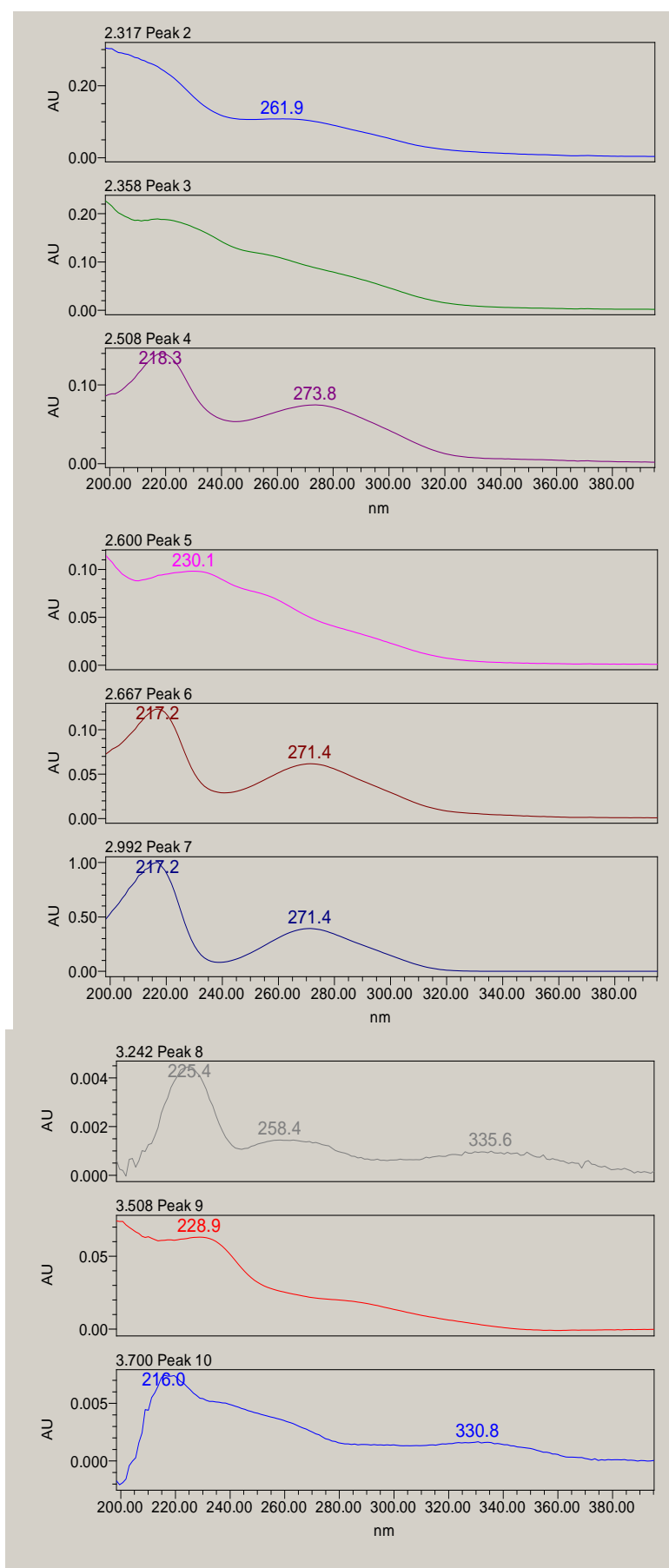


N3 100 µm

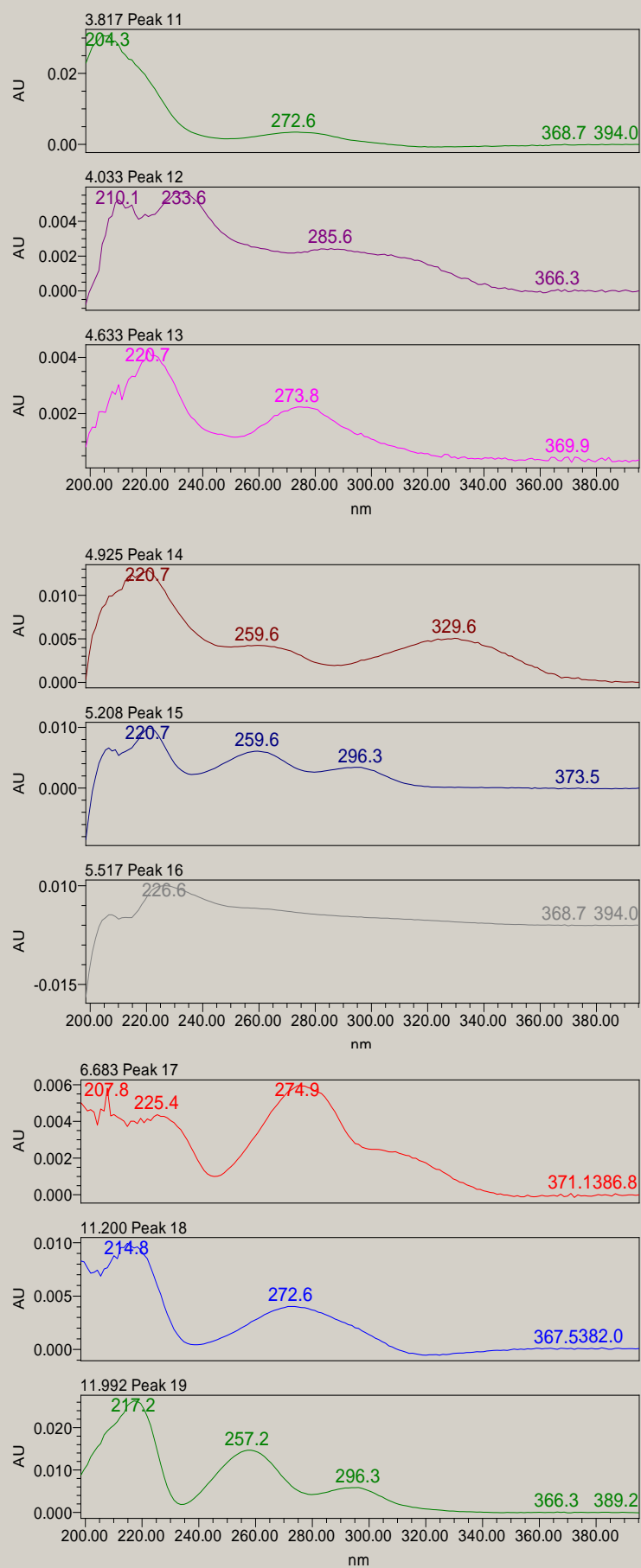
	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area	Height
1	2,048		170865,535	2,119	19595,533
2	2,317	Chestnut component, 5.2min	402371,421	4,990	103913,763
3	2,354	Elagitanino del Castaño 17-18 min aprox.	295959,074	3,671	92143,779
4	2,510	Gallotannin, sumac, 23.1min	416947,684	5,171	74286,379
5	2,601		167558,305	2,078	50154,379
6	2,668	Gallotannin, chestnut, 15.2min	344738,722	4,276	61609,098
7	2,988	Gallic Acid 200ng, 3.2min	2020229,108	25,055	394743,405
8	3,245		5345,780	0,066	1350,214
9	3,505	Pico en extracto de castaño aprox. 6.1min	145891,141	1,809	21411,185
10	3,702		14308,463	0,177	2392,525
11	3,819		21060,661	0,261	3413,203
12	4,033		11666,007	0,145	2176,038
13	4,635		14828,214	0,184	2156,752
14	4,926	Sinapic Acid 200ng, + de 21min	50932,666	0,632	3630,668
15	5,204	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	24987,734	0,310	3804,364
16	5,520		29338,485	0,364	3464,054
17	6,680		50761,583	0,630	5574,850
18	11,200		33257,153	0,412	4006,025
19	11,994	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	60025,150	0,744	7295,900
20	12,877	Gallotannin, sumac, 11.5min	127745,754	1,584	13183,167
21	13,314		108633,231	1,347	7869,029
22	13,650		34887,090	0,433	4699,942
23	13,897		78239,106	0,970	9962,968
24	14,072	Patrón (-)- Epicatechin gallate (50ppm)	38149,082	0,473	5247,357
25	14,601		161215,276	1,999	17680,954
26	15,156	Cumaric Acid peak1 200ng	18295,195	0,227	2542,483
27	15,334		37434,779	0,464	4579,686
28	15,655		163383,549	2,026	17417,984
29	15,876		72883,553	0,904	10189,348
30	16,471		35856,146	0,445	4720,252
31	16,659	Cumaric Acid peak1 200ng	12391,918	0,154	2321,610
32	16,950		357860,233	4,438	35666,761
33	17,222		22979,811	0,285	2714,790
34	17,458		32180,545	0,399	3969,453
35	17,969		42328,701	0,525	5391,570
37	20,028	Ellagitannin, roldor, 20.2min	111362,794	1,381	12660,826
36	19,680		7043,880	0,087	1233,835
38	20,336		20523,564	0,255	3082,446
39	20,456		34477,105	0,428	3162,833
40	20,913		253379,153	3,142	25136,815

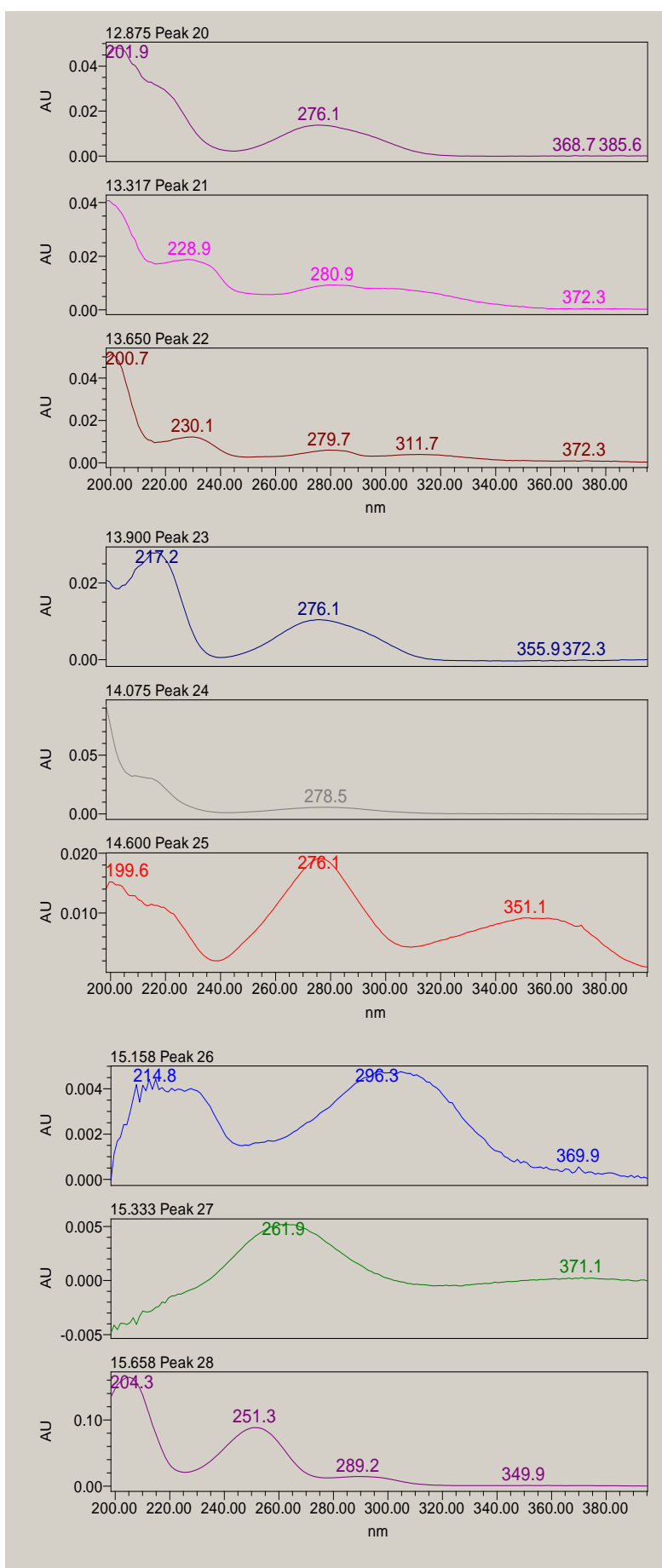
41	21,360		27677,856	0,343	3027,229
42	21,837		33436,869	0,415	5225,348
43	22,006		21310,381	0,264	3481,811
44	22,641		56406,226	0,700	5369,583
45	22,901	Gallotannin, roldor, 19.1min	148829,253	1,846	22325,850
46	23,113	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	127571,024	1,582	16989,443
47	23,294		254567,246	3,157	32631,729
48	23,500		39738,403	0,493	4873,440
49	23,867		19275,066	0,239	2727,488
50	24,092		99652,457	1,236	9705,648
51	24,395		24730,992	0,307	3288,413
52	24,665		765863,361	9,498	104878,532
53	24,902	Ellagitannin, roldor, 20.2min	165321,463	2,050	23790,980
54	25,704		17919,352	0,222	2666,365
55	26,754		26829,804	0,333	4150,709
56	27,313	Ellagic Acid, roldor, 21.3min	42367,366	0,525	6067,680
57	27,689		139232,396	1,727	16015,845

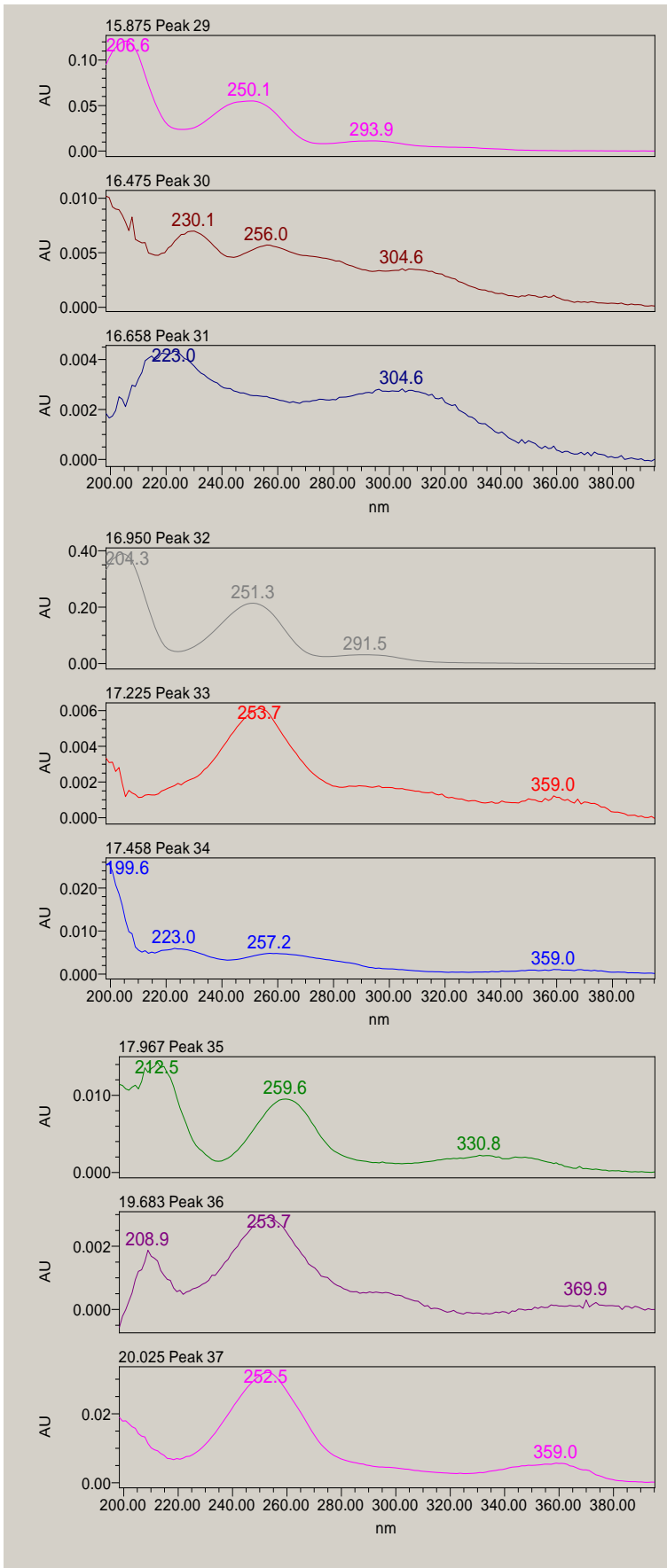


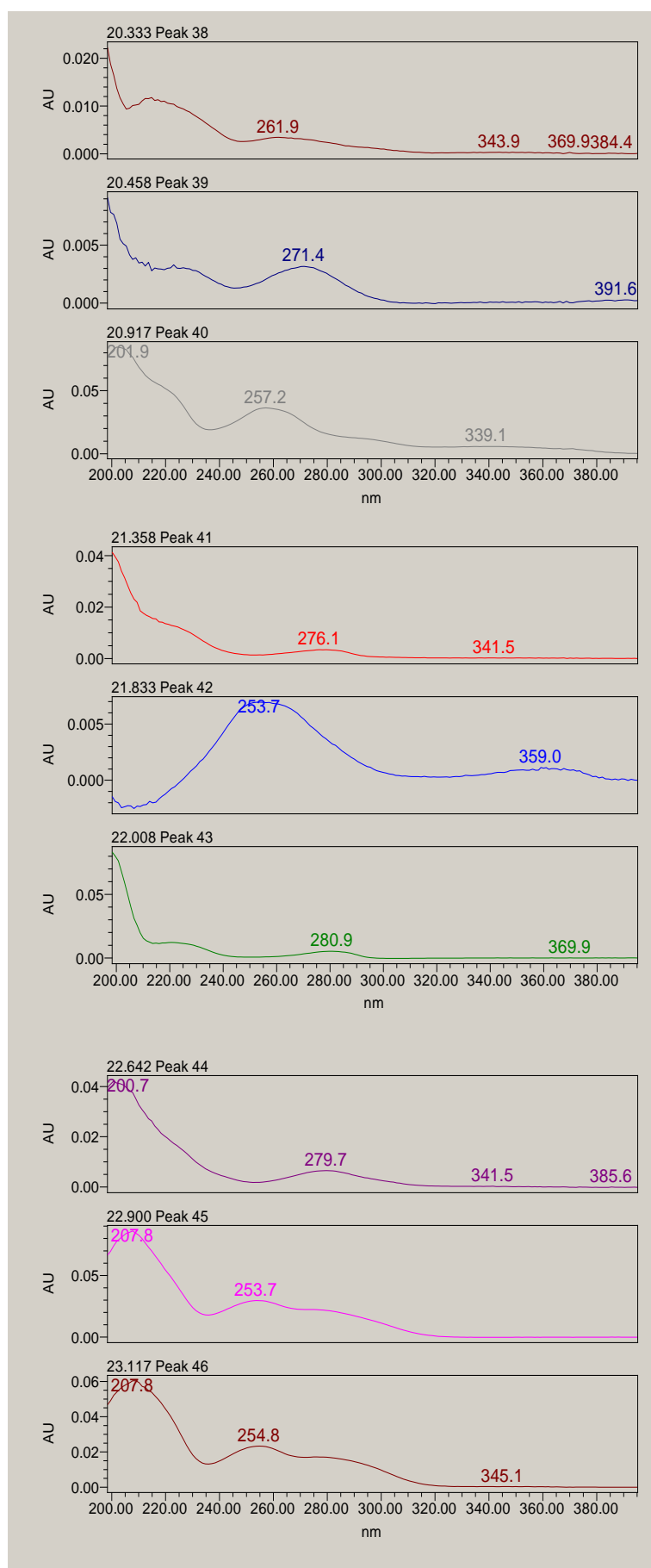


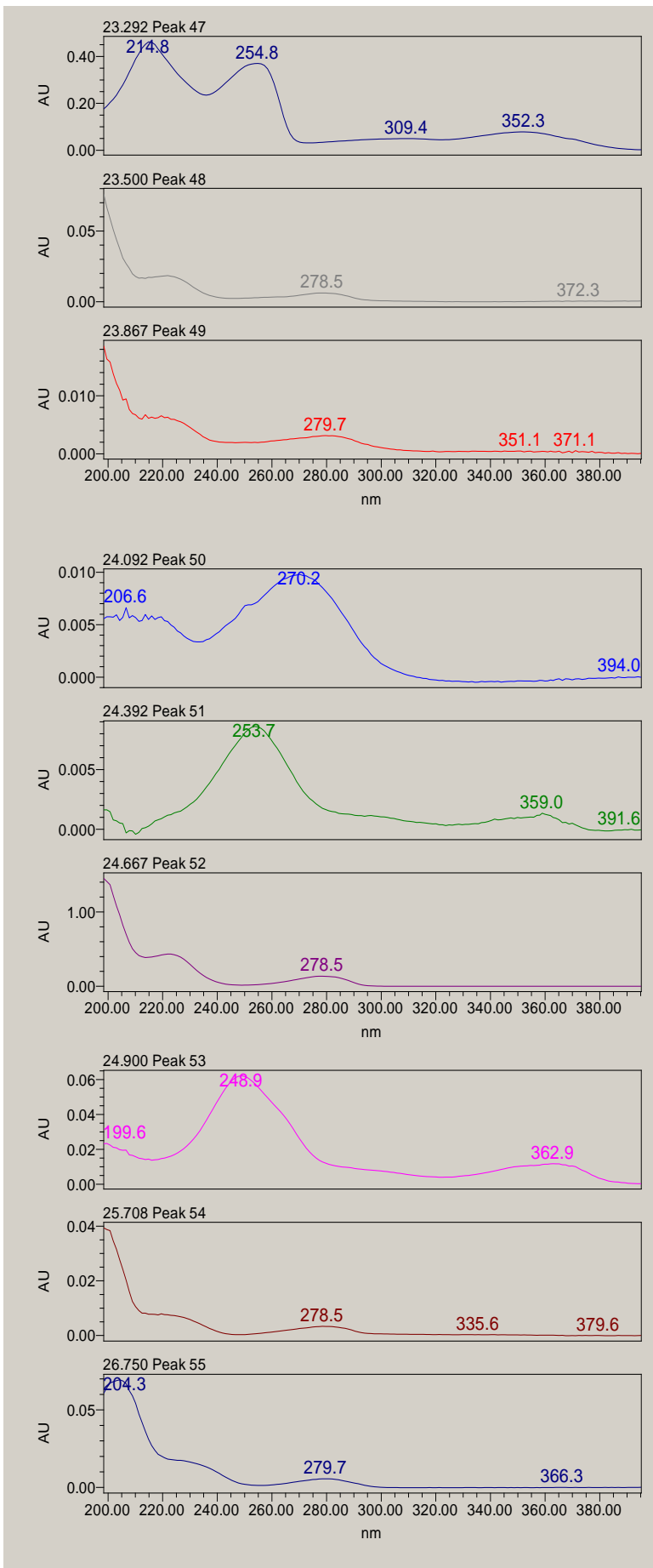


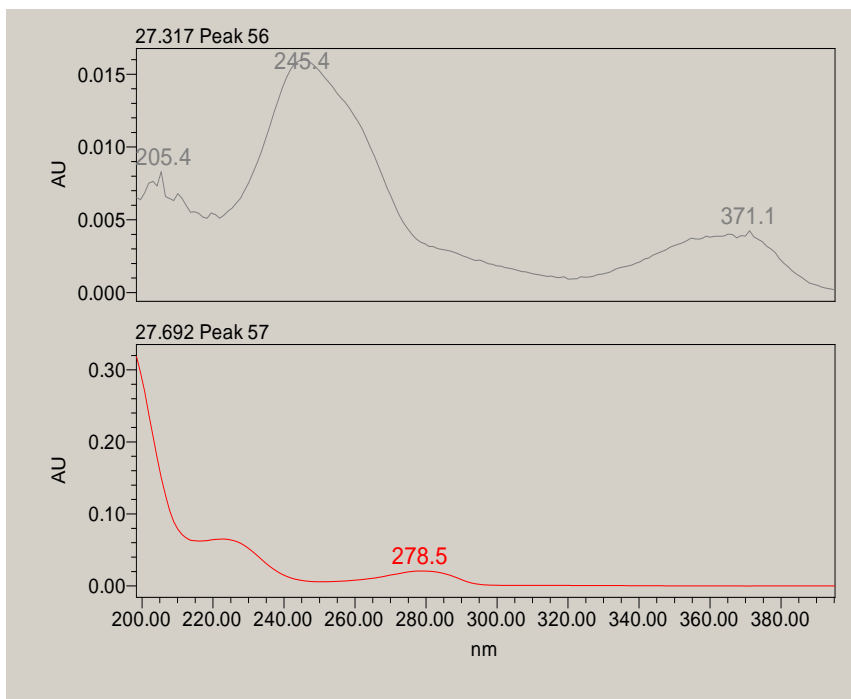








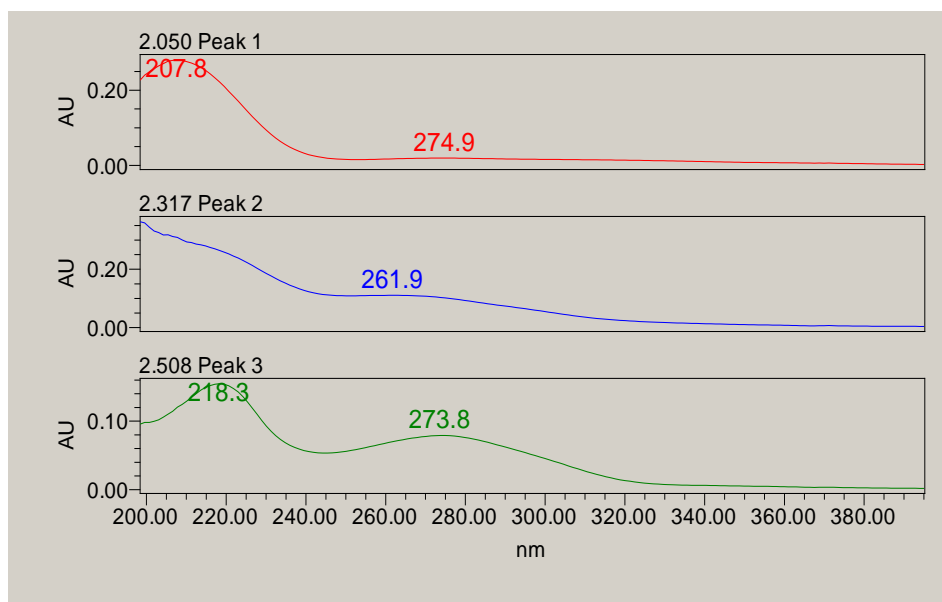




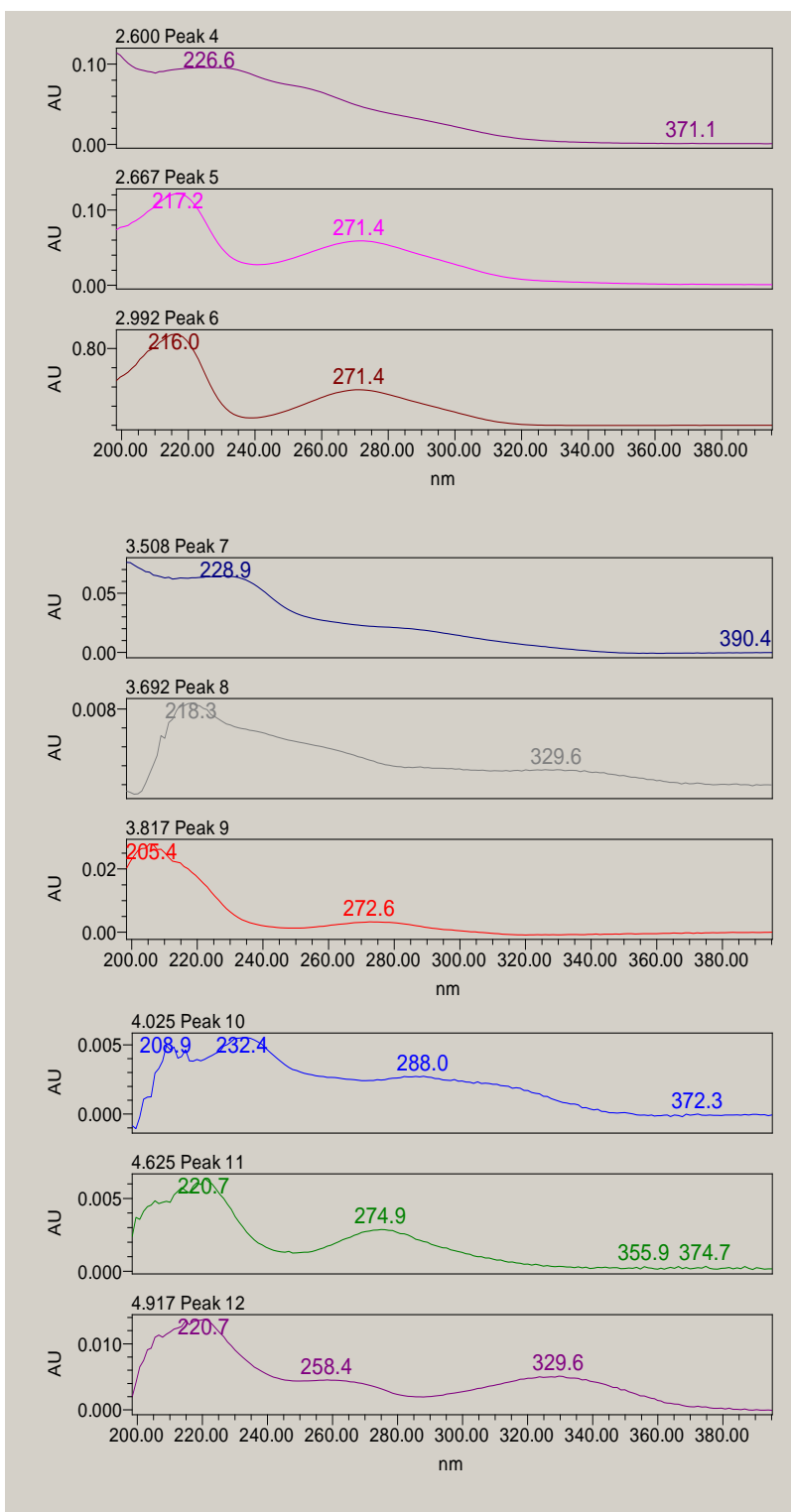
N3 50 µm

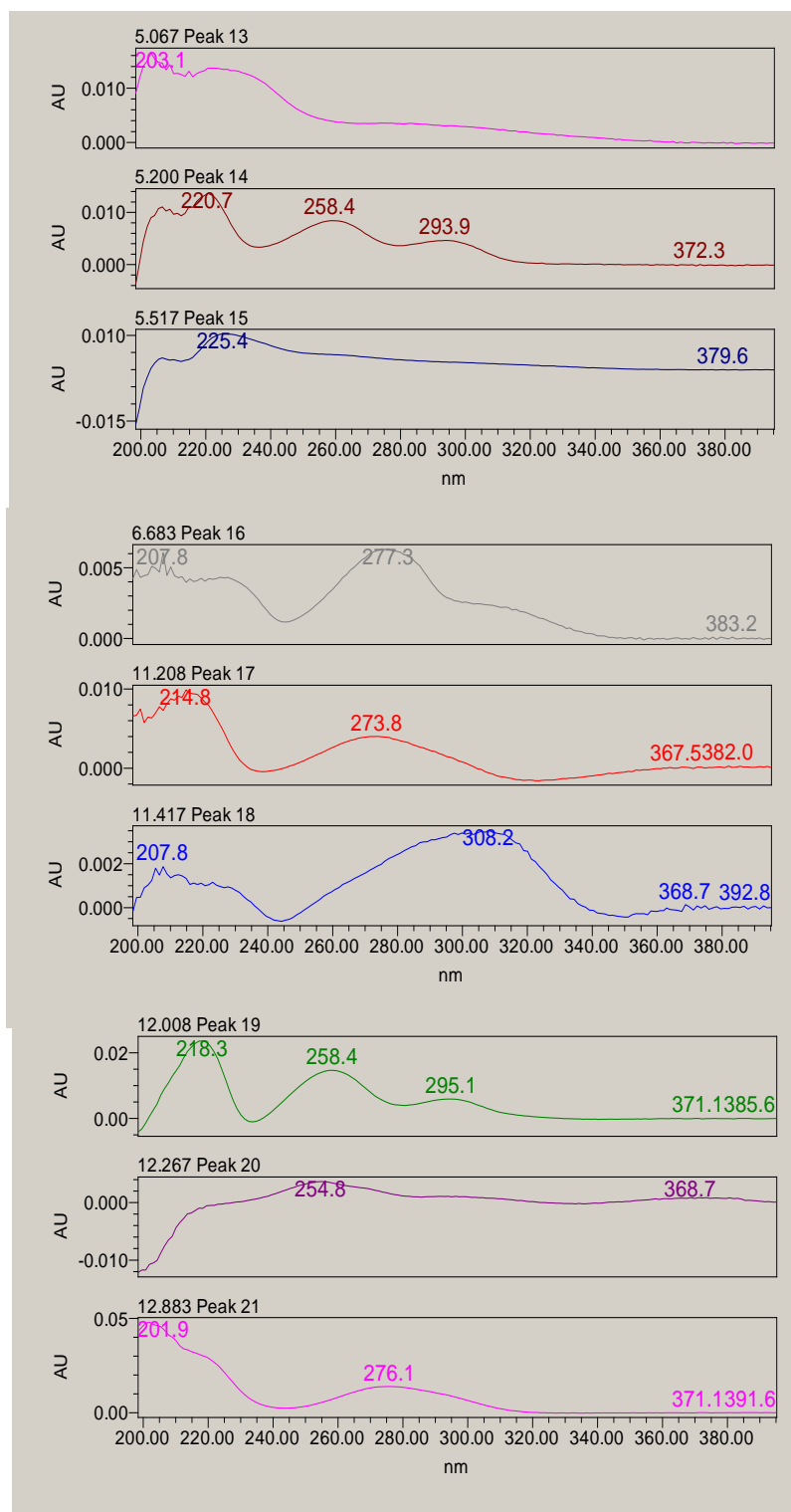
	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	PDA/FLR Match1 Angle	Area	% Area	Height
1	2,049			163546,074	1,998	19262,315
2	2,319	Chestnut component, 5.2min	9,696	710975,534	8,684	106935,240
3	2,509	Gallotannin, sumac, 23.1min	6,842	431463,806	5,270	78172,785
4	2,601			161229,385	1,969	48155,487
5	2,667	Gallotannin, chestnut, 15.2min	7,999	320289,115	3,912	58821,567
6	2,989	Gallic Acid 200ng, 3.2min	1,634	1901160,785	23,222	371059,005
7	3,505	Chestnut component, 3.0min	5,659	152446,952	1,862	22462,761
8	3,693			16474,518	0,201	2741,445
10	4,025			12636,817	0,154	2424,225
9	3,818			21507,701	0,263	3185,224
11	4,626			18300,110	0,224	2754,956
12	4,921	Sinapic Acid 200ng, + de 21min	8,354	37628,445	0,460	3770,124
13	5,067			23565,008	0,288	3503,164
14	5,202	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	6,636	35248,438	0,431	5227,936
15	5,515			31283,767	0,382	3556,771
16	6,685			54716,310	0,668	5940,274
17	11,211			33007,059	0,403	3976,631
18	11,418			10095,366	0,123	1674,283
19	12,006	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	8,467	60217,664	0,736	7117,560
20	12,269			17108,935	0,209	2178,210
21	12,883	Gallotannin, sumac, 11.5min	7,143	136167,796	1,663	13491,789
22	13,314			104822,002	1,280	7262,542
23	13,654			32016,290	0,391	4469,082
24	13,904			75384,625	0,921	9559,624
25	14,078			42169,675	0,515	5919,754
26	14,299			6645,127	0,081	1285,925
27	14,604			165462,956	2,021	17574,783
28	15,174	Cumaric Acid peak1 200ng	6,305	24604,620	0,301	3143,294
29	15,340			34778,910	0,425	4242,810
30	15,663			165581,463	2,023	17394,352
31	15,886			130416,719	1,593	18163,734
32	16,478			40901,026	0,500	5223,645
33	16,668	Cumaric Acid peak1 200ng	7,260	21489,298	0,262	3548,813
34	16,959			298255,899	3,643	29126,300
35	17,229			29015,105	0,354	3612,490
36	17,468			39250,651	0,479	5127,779
37	17,984			47687,786	0,582	5619,509

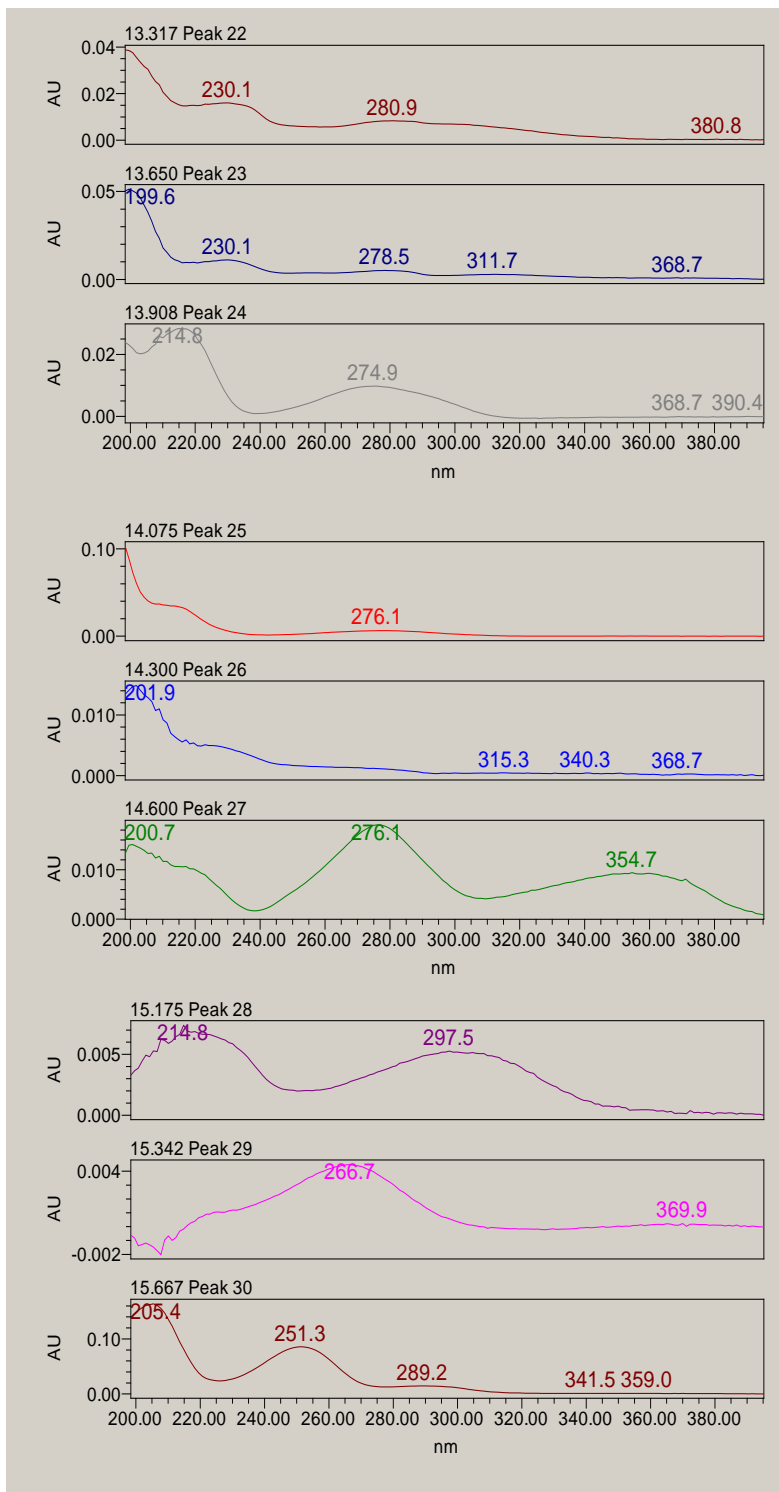
38	19,685			6869,572	0,084	1258,128
39	20,028	Ellagitannin, roldor, 20.2min	2,159	140310,533	1,714	18587,367
40	20,330			5680,680	0,069	1286,037
41	20,911			263142,064	3,214	28161,024
42	21,362			40522,801	0,495	3343,598
43	21,834			38695,191	0,473	5728,786
44	22,005			15087,973	0,184	2533,832
45	22,641			48568,359	0,593	5049,841
46	22,901	Gallotannin, roldor, 19.1min	9,308	153809,168	1,879	23511,794
47	23,112	Protocatechuic Acid 200ng, 6.4min	9,703	145522,618	1,778	19371,241
48	23,295			242668,729	2,964	31600,763
49	23,499			38665,760	0,472	4843,257
50	23,869			24222,551	0,296	3408,981
51	24,099			98824,360	1,207	9376,890
52	24,397			32559,924	0,398	4384,852
53	24,669			782462,277	9,558	105621,960
54	24,905	Ellagitannin, roldor, 20.2min	8,534	230624,611	2,817	33148,053
55	25,704			19918,222	0,243	2949,870
56	26,584			12292,263	0,150	1718,163
57	26,751			32991,448	0,403	4638,050
58	27,309	Ellagic Acid, roldor, 21.3min	9,706	65174,269	0,796	9310,674
59	27,684			140712,045	1,719	16701,186

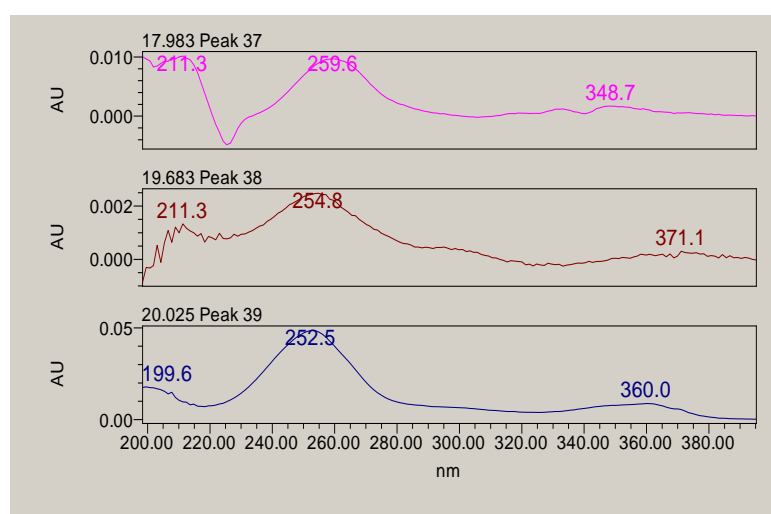
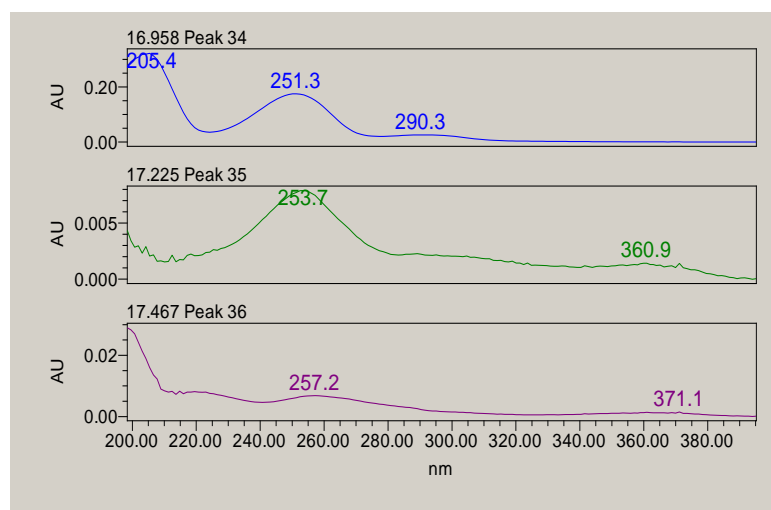
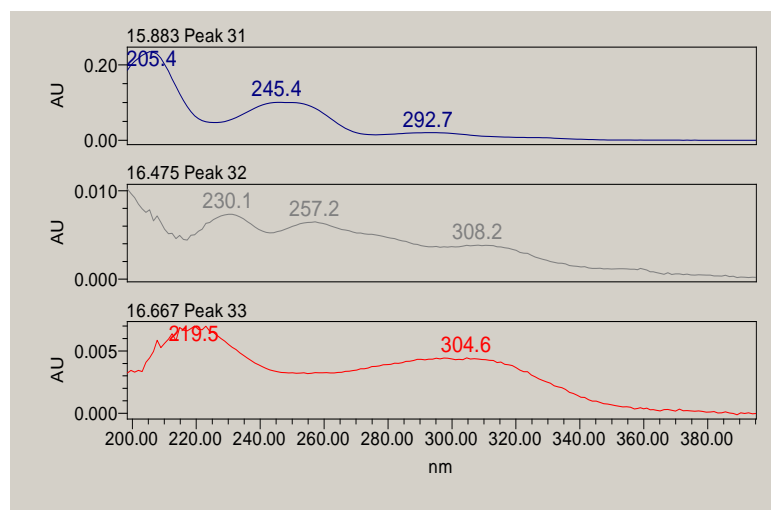


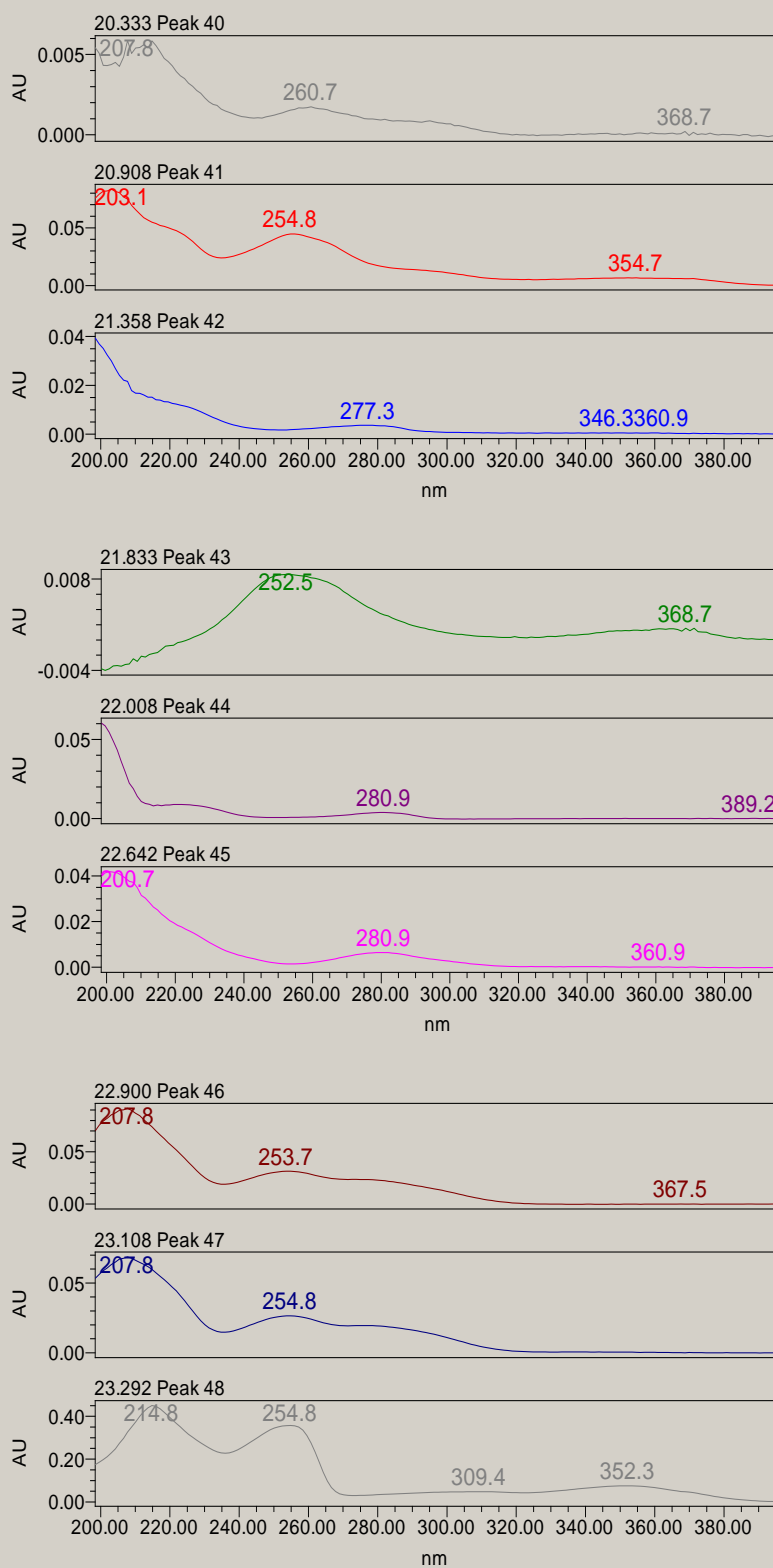


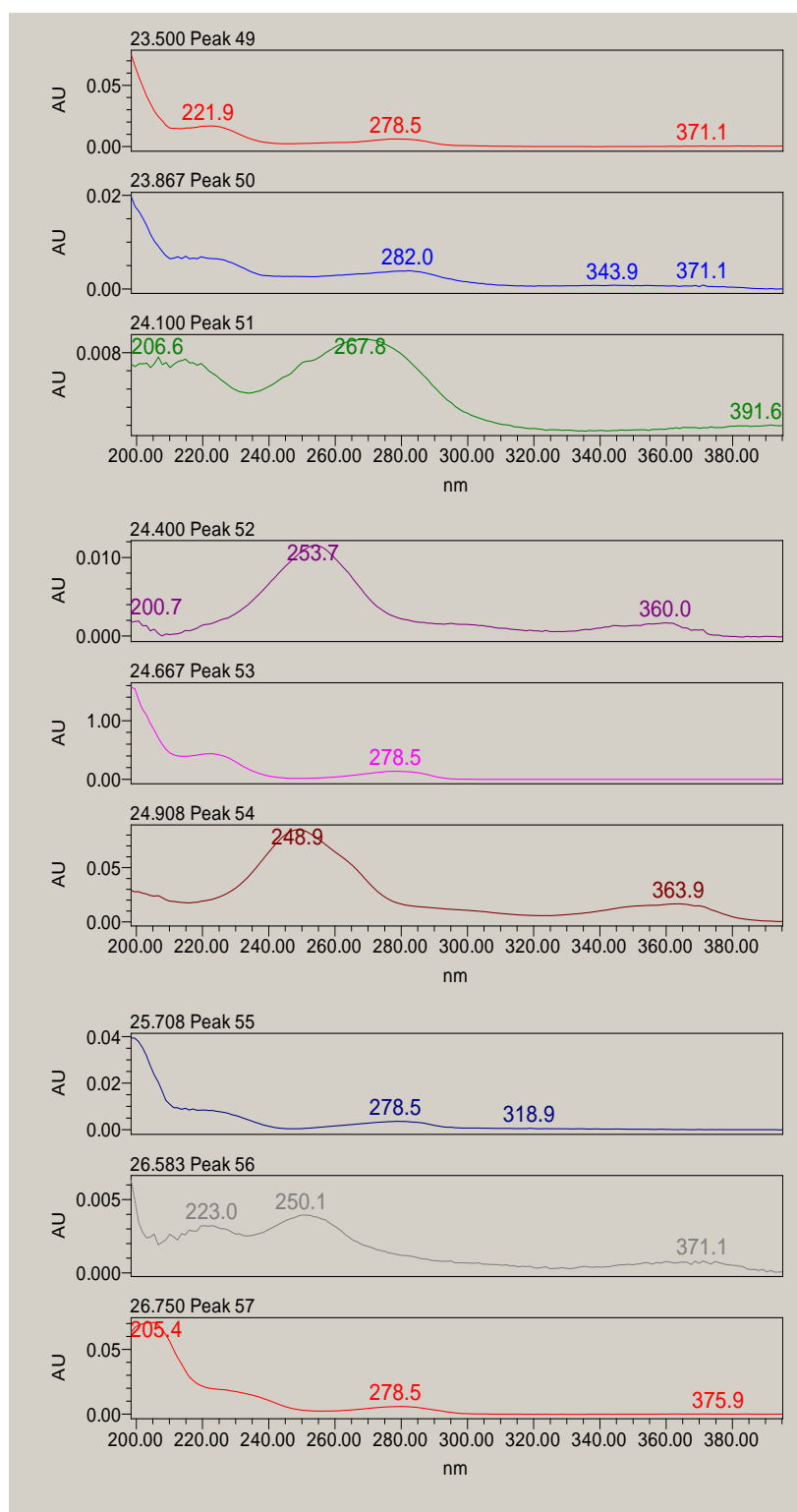


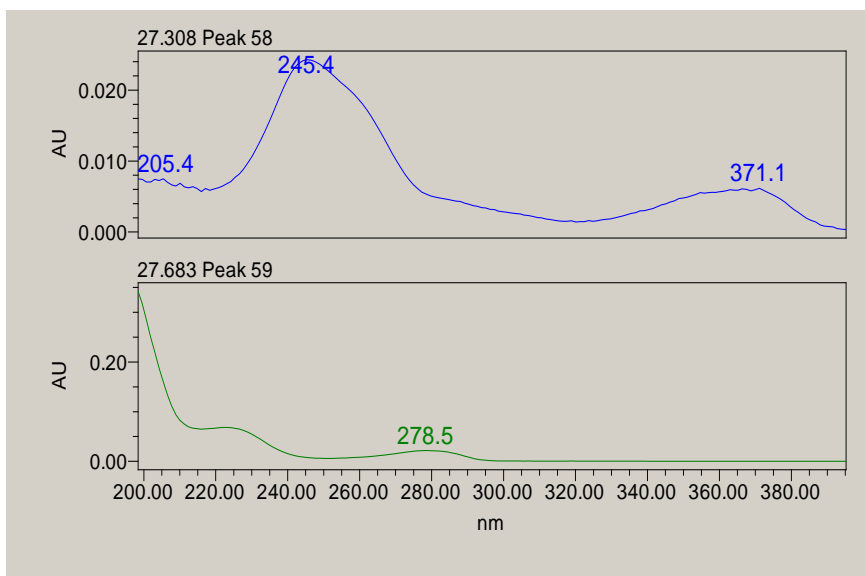












N3 <50 µm

	Retention Time	PDA/FLR Match1 Spect. Name	Area	% Area	Height
65	33,676		17959,711	0,165	3277,004
64	27,635		143492,222	1,318	18104,850
63	27,264		92288,961	0,848	13123,953
62	26,980		26317,670	0,242	4073,482
61	26,703		39933,402	0,367	5600,018
59	25,647		29776,496	0,274	4224,020
60	26,534		21545,229	0,198	2822,566
58	24,855	Ellagitannin, roldor, 20.2min	314851,280	2,893	45111,700
57	24,610		835889,071	7,680	112917,365
56	24,349	Ellagitannin, roldor, 20.2min	47000,867	0,432	6395,189
55	24,044		129568,377	1,190	11939,405
54	23,818		41454,784	0,381	5119,524
53	23,446		61475,769	0,565	7036,746
52	23,215		356939,211	3,279	43296,595
51	23,053		204930,986	1,883	27892,307
50	22,841	Gallotannin, roldor, 19.1min	246459,265	2,264	35496,777
49	22,578		94087,384	0,864	8943,835
48	22,331		32411,377	0,298	4007,653
47	22,129		13653,567	0,125	2083,375
46	21,933		16640,843	0,153	2638,078
45	21,770		58077,115	0,534	8214,436
44	21,283		57004,964	0,524	4415,355
43	20,818	Ellagitannin, roldor, 16.5min	436658,493	4,012	49288,429
42	20,258		26693,443	0,245	2921,822
41	19,947	Ellagitannin, roldor, 20.2min	207582,789	1,907	27610,925
40	19,602		11349,602	0,104	1844,379
39	19,418	Ferulic Acid 200ng	13806,274	0,127	1969,203
38	18,945		6933,067	0,064	1327,789
37	18,134		9708,890	0,089	1449,730
36	17,874		84833,932	0,779	9774,346
35	17,333		48368,305	0,444	6069,838
34	17,111		33130,367	0,304	4706,128
33	16,798		326767,309	3,002	30507,593
32	16,539	Cumaric Acid peak1 200ng	27143,481	0,249	4751,833
31	16,335		51304,205	0,471	5710,192
30	15,922		10598,105	0,097	1683,331
29	15,703		191314,930	1,758	25299,336
28	15,479		228376,354	2,098	22754,119
27	15,144		16594,459	0,152	3104,163
26	14,389		225126,831	2,068	22479,653
25	13,847		64756,316	0,595	8585,913
24	13,683		93171,457	0,856	11693,563
23	13,413		41126,200	0,378	4860,028
22	13,175	Gallotannins, tara, 23.9min	35658,043	0,328	6051,087



21	13,068		92005,716	0,845	7795,487
20	12,595	Gallic Acid, 3.2min	175650,444	1,614	14163,119
19	11,945		29015,768	0,267	3561,194
18	11,751	Vanillic Acid 300ng, 14.0min	96377,815	0,885	8208,721
17	11,093	Cumaric Acid peak1 200ng	53898,385	0,495	4090,150
16	10,826		48792,897	0,448	5136,836
15	9,200	Gallotannin, chestnut, 17.6min	58362,392	0,536	4920,193
14	6,365		78566,754	0,722	9339,945
13	5,724		18307,033	0,168	2214,660
12	4,984	Gallotannin, sumac, 17.3min	91511,895	0,841	11776,213
11	4,738		36778,309	0,338	4418,464
10	4,639	Sinapic Acid 200ng, + de 21min	18584,721	0,171	3526,583
9	4,398		19961,140	0,183	3137,736
8	3,843		23965,368	0,220	4208,202
7	3,664	Elagitanino del Castaño 17-18 min aprox.	37630,195	0,346	4772,098
6	3,416		36857,828	0,339	5517,339
5	3,204	Pico en extracto de castaño aprox. 6.1min	171451,745	1,575	22530,010
4	2,826	Gallic Acid, 3.2min	1915212,398	17,596	389817,891
3	2,618	Gallotannin, sumac, 4.0min	290105,914	2,665	43817,135
2	2,339	Elagitanino del Castaño 17-18 min aprox.	2354041,017	21,627	356479,448
1	2,028		164643,068	1,513	21880,996

